植物营养与肥料学报 2014,20(3):670-680
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer doi: 10.11674/zwyf.2014.0319

外源一氧化氮介导铜胁迫下番茄幼苗中铁、锌、锰的累积及亚细胞分布

张 敏, 梁国鹏, 姜春辉, 崔秀敏*
(土肥资源高效利用国家工程实验室, 山东农业大学资源与环境学院,山东泰安 271018)

摘要: 采用营养液培养方法,以"改良毛粉802F1"番茄为材料, 研究外源一氧化氮(NO,SNP为供体)对铜(Cu)胁迫下番茄幼苗铁(Fe)、锌(Zn)、锰(Mn)吸收分配的影响。结果显示, 50 μmol/L的Cu^{2+}胁迫下,番茄幼苗的生物量和株高显著降低了33.7% 和23.1%,外施100 μmol/L SNP可显著缓解这种抑制作用, 提高Cu胁迫下番茄幼苗根系、茎中Fe、Mn含量及叶柄、叶片中Fe、Zn含量,降低茎中Zn含量及叶柄、叶片中Mn含量; 根系、茎、叶柄、叶片Fe、Zn及根系和茎中Mn的累积相应增加; 根系吸收的Fe、Zn、Mn向地上部的转运降低。Cu胁迫下, 外源NO可显著提高番茄液泡、细胞器的Fe、Zn含量, 降低根系和叶片细胞壁Fe、Zn、Mn含量。在作为转运组织的茎和叶柄中,Mn主要分布在细胞壁上,而在叶柄和叶片液泡、细胞器中也有增加。表明外源NO可以调控番茄幼苗各部位及亚细胞中Fe、Zn、Mn的合理分布,维持胞质离子稳态和矿质营养元素平衡,缓解铜胁迫,保证番茄幼苗正常的生理代谢。

关键词: 番茄; 铜胁迫; 一氧化氮; Fe、Zn、Mn; 亚细胞分布
中图分类号: S641.2.601; Q945.78 **文献标识码**: A **文章编号**: 1008-505X(2014)03-0670-11

Exogenous nitric oxide involved in the accumulation and subcellular distribution of Fe, Zn and Mn in tomato seedlings under copper stress

ZHANG Min, LIANG Guo-peng, JIANG Chun-hui, CUI Xiu-min*
(*National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources/College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China*)

Abstract: A tomato cultivar, Gailiang Maofen 802F1, was selected as the planting material to investigate effects of NO on the absorption and distribution of Fe, Zn and Mn in tomato seedlings under copper stress using nutrient solution cultivation in greenhouse. The results show that the biomass and plant height of tomato seedlings are decreased by 33.7% and 23.1% respectively under the 50 μmol/L copper stress, while the addition of 100 μmol/L SNP could remarkably alleviate this inhibition effect. For mineral elements, SNP could remarkably increase the Fe and Mn concentrations in roots and stems, and Fe and Zn concentrations in petioles and leaves, and the Zn concentration in stems and the Mn concentrations in petioles and leaves are reduced under the copper stress. Meanwhile the exogenous NO could improve Fe and Zn accumulation amounts in roots, stems, petioles and leaves and Mn accumulation amounts in roots and stems, while the exogenous NO reduces the transformation of the absorbed Fe, Zn and Mn red from roots to shoots. Under the Cu stress, the exogenous NO could remarkably increase the Fe and Zn concentrations in vacuole and organelle of all organs and decrease Fe, Zn and Mn concentrations in cell wall of roots and leaves. Mn mainly concentrates on the cell walls of stems and petioles that function as transport organizations, while its concentrations in vacuole and organelle of petioles and leaves are also

收稿日期: 2013-07-15 **接受日期**: 2013-10-15
基金项目: 国家自然科学基金(31201619); 泰安市科技发展计划项目(32606)资助。
作者简介: 张敏(1986—), 男, 山西忻州人, 硕士研究生, 主要从事植物营养机理与调控及设施环境质量评价方面研究。
E-mail: zm394872519@163.com。 * 通信作者 E-mail: xiumincui@sdau.edu.cn

increased. These results suggest that the exogenous NO could effectively regulate Fe, Zn and Mn rational distributions in organs and subcellular microzone under the Cu stress, so that the seedlings could keep a better balance between mineral nutrition elements and intracellular ion homeostasis to maintain normal physiological metabolism of tomato.

Key words: tomato seedlings; copper stress; nitric oxide; iron, zinc, manganese; subcellular distribution

铜(Cu)是植物正常生命活动所必需的微量营养元素,广泛参与各种生命活动。同时,铜也是一种重金属元素,过量的 Cu 会对植物产生毒害作用,如破坏生理结构、引发代谢紊乱、抑制植物生长发育等问题[1-4]。目前,在农业生产中,污水灌溉和含铜的肥料及农药的大量使用,导致土壤系统中 Cu 不断累积,明显高于其背景值[5]。

一氧化氮(nitric oxide,NO)是广泛分布于生物体内的小分子信号物质。研究发现 NO 参与植物的生长发育和对外界胁迫反应等多种生理过程。NO 能够提高逆境胁迫下植物抗性和生物量[6-7],维持组织结构稳定[8],参与植物激素的调控,提高植物对过多铜的螯合能力[9]。铁(Fe)、锌(Zn)、锰(Mn),作为微量元素亦在植物生命代谢中发挥着重要作用。如 Fe 元素参与光合作用和固氮过程,并在叶绿素合成中起关键作用; Zn 是植物体 59 种复合酶的组分或活化剂,并参与生长素代谢; Mn 对种子发芽、幼苗生长、花粉管发育和植物茎的机械强度均有重要作用[10]。Fe^{2+}、Zn^{2+}、Mn^{2+} 在植物根系吸收及转运过程中与 Cu^{2+} 存在复杂的相互作用。研究发现,铜胁迫下,外源 NO 可调控番茄组织与细胞内过多的铜趋于更合理的分布[11],势必也会影响带有相同电荷的 Fe^{2+}、Zn^{2+}、Mn^{2+} 的宏观及微域分布。

本文以番茄为试验材料,采用营养液培养,研究外源 NO 调控的 Cu 胁迫下番茄幼苗中 Fe、Zn、Mn 的累积及亚细胞分布,探索 Cu 胁迫下外源 NO 介导的番茄的营养机理。

1　材料和方法

1.1　供试材料

供试番茄(*Solanum lycopersicum* L.)为"改良毛粉 802F1"。Hoagland 营养液组成(mmol/L): $Ca(NO_3)_2-4H_2O$ 1.25、KNO_3 0.5、NH_4NO_3 0.73、KH_2PO_4 0.5、H_3BO_3 4.6×10^{-2}、Na_2MoO_4 2.6×10^{-3}、$MgSO_4$ 1.0、EDTA-Fe 2×10^{-2}、$MnCl_2$ 9×10^{-3}、$ZnSO_4$ 7.6×10^{-4},以上试剂均为分析纯,用蒸馏水配制。NO 和 Cu^{2+} 的供体及适宜浓度由预备试验完成, $CuCl_2$ 提供 Cu^{2+},硝普钠[$Na_2Fe(CN)_5$、NO、SNP 购自 Sigma 公司]提供 NO,先用蒸馏水配成 200 μmol/L 的母液,4℃避光保存,用时按所需浓度稀释。牛血红蛋白(Hb,购自 Sigma 公司)为 NO 的清除剂。

1.2　试验设计

试验在山东农业大学温室内进行。种子经 55℃ 温汤浸种消毒 15 min,然后在湿润的吸水纸上 26℃ 催芽。待种子露白后,播于洗净的蛭石中,萌发后用 1/4 Hoagland 营养液浇灌。当幼苗具有 3～4 片真叶时,挑选生长一致的植株洗净根部蛭石后,移栽于 5 L 塑料盆中,用厚度为 3 cm 的泡沫塑料板做成锲形盖子,覆盖在塑料盆顶部。每盆栽 5 株,用 1/2 Hoagland 营养液进行栽培。1 周后换成完全营养液,此后每 3 d 更换一次营养液。营养液栽培期间用电动气泵 24 h 连续通气。

在植株长有 5～6 片真叶时,对番茄幼苗进行胁迫处理。试验设置 4 个处理: 1)对照,Hoagland 完全营养液(CK); 2)50 μmol/L $CuCl_2$(Cu); 3)50 μmol/L $CuCl_2$ +100 μmol/L SNP(Cu + SNP); 4)50 μmol/L $CuCl_2$ +100 μmol/L SNP +0.1% Hb(Cu + SNP + Hb)。每个处理 3 次重复,在温室内随机排列。处理期间每隔 2 d 更换一次营养液,用 0.1 mol/L KOH 或 HCl 调节至 pH 5 ±0.2。温室内光照约 12 h,白天最高温度 32℃,夜间最低温度 15℃。处理 8 d 后,取相同节位的叶片进行相关分析和测定。

1.3　测定项目与方法

1.3.1 生物量的测定　处理后第 8 d,移出番茄幼苗,测定各处理植株的株高,并将植株分为根系、茎、叶柄、叶片四部分,用去离子水冲洗干净,吸水纸吸干表面水分,称鲜重。

1.3.2 亚细胞结构分离　参照 Weigel 等[12]和 Rathore 等[13]的方法,将番茄植株取下后先用去离子水洗净,再用超纯水冲洗 2 遍,分别称取根系、茎、叶柄、叶片鲜样各 1.0 g,用于亚细胞分级测定。用预冷的匀浆液将其在研钵冰浴充分研磨。匀浆液组成为 0.25 mol/L 蔗糖、50 mmol/L 顺丁烯二

酸盐(Tris-maleate)缓冲液(pH 7.8)、1 mmol/L $MgCl_2$和10 mmol/L半胱氨酸。匀浆液pH 7.8,匀浆液及组织的体积为15～20 mL,后转入50 mL离心管,在高速冷冻离心机中于300 r/min离心1 min,下部沉淀为细胞壁组分。上清液在20000 r/min离心45 min,底层碎片为细胞器组分,上清液为液泡组分,包括细胞质及液泡内的大分子、有机质和无机离子。整个匀浆过程和分离过程均在4℃下进行。

1.3.3 植株Fe、Zn、Mn含量的测定 将收获后的番茄植株分为根系、茎、叶柄和叶片四部分,各取1.000 g分置于100 mL三角瓶中,加入5 mL HNO_3和1 mL $HClO_4$摇匀过夜,在电热板上缓慢加热消煮至澄清,用超纯水定容至50 mL,原子吸收分光光度计(AA370MC)测定Fe、Zn、Mn含量;分析所用HNO_3和$HClO_4$均为优级纯,并采用国家标准参比物质(植物:GBW-07403)进行分析质量控制,分析误差均在允许范围内。亚细胞分离过程的总回收率为91%～97%,以提取剂作为对照。分离后的细胞壁、液泡和细胞器组分也采用同样的方法处理。

1.4 数据处理

采用Fe、Zn、Mn转运因子(transport factor, TF)计算Fe、Zn、Mn从根到地上部的运输特征[14]:

$$TF = (C_{stem} + C_{leaf} + C_{petiole}) / C_{root}$$

式中:C_{stem}、C_{leaf}、$C_{petiole}$和C_{root}分别表示茎、叶片、叶柄和根系中的Fe、Zn、Mn的累积量。

采用Microsoft Excel软件对数据进行处理及绘图,采用DPS软件进行数据统计分析,采用最小显著差异法(LSD)进行多重比较和差异显著性检验($\alpha = 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 外源NO对Cu胁迫下番茄幼苗生长的影响

从图1可以看出,不同处理下番茄幼苗的生物量和株高均有显著差异。与对照(CK)相比,Cu胁迫处理(Cu)下番茄幼苗生物量和株高显著下降了33.7%和23.1%。添加外源SNP(Cu+SNP)显著缓解了Cu胁迫引起的生长抑制,使番茄幼苗的生物量几乎恢复到对照水平,株高虽然没有恢复到对照水平,但仍显著高于Cu胁迫处理。添加血红蛋白后(Cu+SNP+Hb),显著消除了NO的缓解效果,说明外源NO可以促进Cu胁迫下番茄幼苗的生长发育。

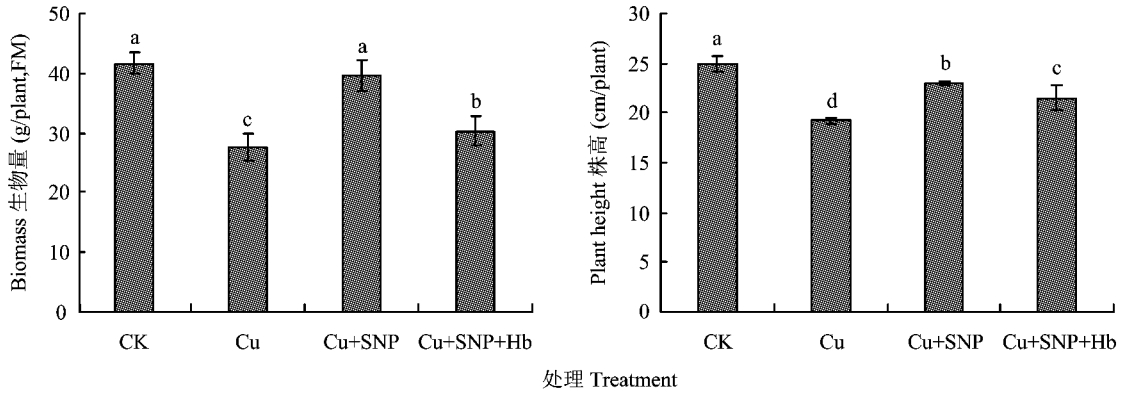

图1 外源一氧化氮对铜胁迫下番茄幼苗生物量和株高的影响

Fig.1 Effects of exogenous NO on the biomass and height of tomato seedlings under Cu stress

[注(Note):柱上不同字母表示处理间差异达5%显著水平 Different letters above the bars mean significant among treatments at the 5% level.]

2.2 外源NO对Cu胁迫下番茄幼苗Fe含量和累积量的影响

由表1可以看出,番茄幼苗各部位的Fe含量和累积量变化幅度较大,根系和叶柄的Fe含量和累积量最高。不同处理间各部位Fe含量和累积量差异显著。与对照(CK)相比,Cu胁迫处理显著降低番茄幼苗根系、茎、叶柄和叶片的Fe含量,分别减少了43.6%、21.5%、5.5%和13.7%。添加外源SNP(Cu+SNP)可显著提高Cu胁迫下番茄幼苗的Fe含量,根系、茎、叶柄、叶片中Fe含量分别比Cu胁迫处理增加了262.2%、35.3%、29.3%和16.3%,添加血红蛋白后(Cu+SNP+Hb),番茄幼苗茎和叶柄中的Fe含量比Cu+SNP处理降低了15.6%和7.1%,根系和叶片中Fe含量增加了13.3%

表 1　番茄幼苗不同部位的铁含量和累积量

Table 1　Fe concentration and accumulation in different parts of tomato seedlings

处理 Treatment	铁含量 Fe concentration(mg/kg, FW)				铁累积量 Fe accumulation(μg/plant)				转运因子 Transport factor
	根系 Root	茎 Stem	叶柄 Petiole	叶片 Leaf	根系 Root	茎 Stem	叶柄 Petiole	叶片 Leaf	
CK	465.60 ± 5.25 c	103.50 ± 2.66 a	191.67 ± 2.35 c	87.83 ± 0.83 b	366.98 ± 4.14 b	171.95 ± 4.42 b	145.60 ± 1.79 c	134.35 ± 1.27 b	1.23
Cu	262.70 ± 18.54 d	81.23 ± 2.08 c	181.23 ± 3.00 d	75.80 ± 3.12 c	82.71 ± 5.84 c	104.64 ± 2.68 d	172.21 ± 2.85 b	101.23 ± 4.17 d	4.57
Cu + SNP	951.40 ± 14.65 b	109.93 ± 6.54 a	234.20 ± 5.37 a	88.13 ± 1.10 b	367.11 ± 5.56 b	208.15 ± 12.3 a	225.71 ± 5.17 a	110.63 ± 1.38 c	1.48
Cu + SNP + Hb	1078.80 ± 46.76 a	92.73 ± 3.86 b	217.50 ± 4.85 b	128.20 ± 4.42 a	920.28 ± 39.89 a	139.10 ± 5.79 c	171.14 ± 3.82 b	222.63 ± 7.67 a	0.58

注(Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatments at the 5% level.

和 45.5%,均达到显著差异水平。

与 CK 相比,Cu 胁迫处理下,番茄幼苗各部位 Fe 累积量均显著降低。与 Cu 胁迫处理相比,Cu + SNP 处理显著提高番茄各部位 Fe 累积量。Cu + SNP + Hb 处理的番茄幼苗茎和叶柄中 Fe 含量显著降低,根系和叶片中 Fe 含量显著增加,但仍显著高于 CK 和 Cu 胁迫处理。

CK 处理的 Fe 转运因子 (TF) 为 1.23,Cu 胁迫处理 TF 为 4.57,添加外源 SNP 使 TF 降低为 1.48,表明外源 SNP 能显著降低根系中的 Fe 向地上部转运。

2.3　外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄幼苗 Fe 的亚细胞分布的影响

表 2 显示,Cu 胁迫处理与对照(CK)相比,番茄幼苗根系细胞中细胞壁的 Fe 含量显著提高。添加外源 SNP(Cu + SNP)可显著提高细胞器和液泡的 Fe 含量,分别比 Cu 胁迫处理提高了 54.5% 和 133.2%,而细胞壁的 Fe 含量显著降低 27.3%,差异均达显著水平。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),显著消除了 NO 的效果,与 Cu + SNP 处理相比,细胞壁和液泡 Fe 含量显著降低 35.1% 和 39.4%,而细胞器的 Fe 含量显著上升 21. 4%。表明番茄幼苗根系受到 Cu 胁迫后,外源 NO 可以提高细胞器中的活性铁,有利于细胞进行正常代谢。

与 CK 相比,Cu 胁迫处理提高了番茄幼苗茎细胞中细胞器和液泡的 Fe 含量。Cu 胁迫处理下,茎细胞中细胞器和液泡的 Fe 含量分别比 CK 提高 49.2% 和 16.6%,而细胞壁的 Fe 含量显著降低 52.9%。添加外源 SNP(Cu + SNP) 后,细胞壁 Fe 含量占茎细胞 Fe 总含量的比例与 Cu 胁迫处理相比升高 10.6%,细胞器 Fe 含量所占比例升高 9.1%,液泡 Fe 含量所占比例降低 19.7%。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),不同亚细胞的 Fe 含量均显著降低。

Cu 胁迫处理与 CK 相比,显著提高番茄幼苗叶柄细胞中细胞壁和液泡的 Fe 含量,分别比 CK 提高 13.1% 和 15.3%,而细胞器的 Fe 含量显著降低了 19.2%。与 Cu 胁迫处理相比,添加外源 SNP(Cu + SNP)后显著增加了番茄幼苗根细胞中不同亚细胞的 Fe 含量,细胞壁、细胞器和液泡的 Fe 含量分别提高了 30.2%、43.5% 和 18.8%。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),细胞壁、细胞器和液泡中的 Fe 含量比 Cu + SNP 处理分别降低了 11.3%、14.9% 和 19.4%。

Cu 胁迫处理下,番茄幼苗叶片细胞中液泡的 Fe 含量比 CK 提高 8.9%,而细胞壁和细胞器则比 CK 分别降低了 11.6%、20.5%。与 Cu 胁迫处理相比,Cu + SNP 处理的细胞器和液泡的 Fe 含量分别提高 14.9% 和 15.0% 细胞壁 Fe 含量降低了 24.0%。Cu + SNP + Hb 处理的细胞壁和细胞器的 Fe 含量占叶片细胞 Fe 总含量的比例,与 Cu 胁迫处理相比分别提高了 5.0% 和 4.3%,液泡的 Fe 含量所占比例下降了 9.3%。

表2 番茄幼苗中铁的亚细胞分布

Table 2 Subcellular distribution of Fe in tomato seedlings

器官 Organ	处理 Treatment	铁浓度 Fe concentration (mg/kg,FW)		
		细胞壁 Cell wall	细胞器 Organelle	液泡 Vacuole
根系 Root	CK	115.43 ±13.6 c	52.13 ±4.38 d	35.07 ±0.61 b
	Cu	244.50 ±18.70 a	73.90 ±4.39 c	26.13 ±3.48 c
	Cu + SNP	177.80 ±26.20 b	114.20 ±5.05 b	60.93 ±6.96 a
	Cu + SNP +Hb	115.43 ±27.90 c	138.63 ±11.60 a	36.90 ±2.72 b
茎 Stem	CK	78.67 ±6.18 a	27.43 ±3.62 d	51.10 ±2.91 b
	Cu	37.07 ±1.17 d	40.93 ±2.06 b	59.60 ±1.97 a
	Cu + SNP	54.87 ±2.81 b	56.77 ±0.35 a	34.43 ±3.31 c
	Cu + SNP +Hb	46.33 ±2.15 c	33.83 ±1.55 c	32.03 ±3.19 c
叶柄 Petiole	CK	24.60 ±3.10 d	31.93 ±1.27 b	19.97 ±1.56 c
	Cu	27.83 ±0.67 c	25.80 ±2.26 c	23.03 ±0.74 b
	Cu + SNP	36.23 ±0.72 a	37.03 ±1.55 a	27.37 ±2.21 a
	Cu + SNP +Hb	32.13 ±0.25 b	31.50 ±0.79 b	22.06 ±1.25 bc
叶片 Leaf	CK	91.57 ±2.25 a	46.40 ±2.59 b	44.33 ±1.55 c
	Cu	80.93 ±4.89 b	36.87 ±1.49 c	48.27 ±1.37 b
	Cu + SNP	61.53 ±1.72 d	42.37 ±1.23 b	55.53 ±1.97 a
	Cu + SNP +Hb	72.50 ±1.21 c	51.37 ±3.42 a	42.43 ±1.21 c

注(Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异达5%显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatment at the 5% level.

2.4 外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄幼苗 Zn 含量和累积量的影响

由表3可以看出,番茄幼苗各部位的 Zn 含量和累积量变化幅度较大,根系和叶片的 Zn 含量和累积量最高。不同处理间番茄幼苗各部位的 Zn 含量和累积量差异显著。Cu 胁迫处理下,根系、茎、叶柄的 Zn 含量分别比 CK 减少了 85.1%、19.8%、15.0%,而叶片中 Zn 含量增加了 28.4%。Cu + SNP 处理可显著提高 Cu 胁迫下番茄幼苗根系、叶柄和叶片的 Zn 含量,分别比 Cu 胁迫处理下提高了 8.3%、27.9% 和 17.2%,而茎中 Zn 含量降低了 17.1%。Cu + SNP + Hb 处理的番茄幼苗茎、叶柄和叶片中的 Zn 含量与 Cu + SNP 处理相比降低 18.0%、7.4%和 21.3%,而根中的 Zn 含量为 Cu + SNP 处理的 3.83 倍,差异显著。

Cu 胁迫处理下,番茄幼苗根系和茎的 Zn 累积量比 CK 显著降低,叶柄和叶片中的 Zn 含量则显著增加。与 Cu 胁迫处理相比,添加外源 SNP 显著提高了番茄各部位 Zn 的累积量。添加血红蛋白后,番茄幼苗根系和叶片的 Zn 累积量显著提高,而茎和叶柄的 Zn 累积量显著降低。

CK 处理的 Zn 转运因子(TF)为 0.85,Cu 胁迫处理后 TF 为 13.48,添加外源 SNP 使 TF 降低为 11.84,表明外源 SNP 能显著降低根系中的 Zn 向地上部转运。

2.5 外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄幼苗 Zn 的亚细胞分布的影响

与 CK 相比,Cu 胁迫显著降低番茄幼苗根系不同亚细胞结构中的 Zn 含量,细胞壁、细胞器和液泡的 Zn 含量分别降低 23.9%、75.7%和 35.9%(表4)。添加外源 SNP(Cu + SNP)可显著提高液泡的 Zn 含量,比 Cu 胁迫处理提高了 91.1%,细胞器的 Zn 含量仅提高了 0.7%,而细胞壁的 Zn 含量降低了 31.9%。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),显著消除了 NO 的效果,与 Cu + SNP 处理相比,细胞壁 Zn 含量显著上升了 95.7%,液泡的 Zn 含量降低 13.4%.而细胞器的 Zn 含量无明显变化。

表 3　番茄幼苗不同部位的锌含量和累积量

Table 3　Zn concentration and accumulation in different parts of tomato seedlings

处理 Treatment	锌含量 Zn concentration (mg/kg, FW)				锌累积量 Zn accumulation (μg/plant)				转运因子 Transport factor
	根系 Root	茎 Stem	叶柄 Petiole	叶片 Leaf	根系 Root	茎 Stem	叶柄 Petiole	叶片 Leaf	
CK	239.20 ± 22.40 a	32.39 ± 1.86 a	36.46 ± 1.50 b	51.32 ± 1.68 d	188.50 ± 17.68 a	53.81 ± 3.09 a	27.69 ± 1.14 b	78.49 ± 2.57 d	0.85
Cu	35.57 ± 0.89 c	25.99 ± 1.69 b	30.98 ± 2.00 c	65.89 ± 0.90 b	11.20 ± 0.28 c	33.49 ± 2.17 c	29.44 ± 1.90 b	88.00 ± 1.21c	13.48
Cu + SNP	38.51 ± 1.61 c	21.56 ± 0.68 c	39.62 ± 0.78 a	77.24 ± 1.34 a	14.86 ± 0.62 c	40.82 ± 1.28 b	38.18 ± 0.76 a	96.95 ± 1.68 b	11.84
Cu + SNP + Hb	147.38 ± 6.06 b	17.68 ± 1.55 d	36.70 ± 0.39 b	60.83 ± 3.36 c	125.73 ± 5.17 b	26.53 ± 2.33 d	28.87 ± 0.31 b	105.63 ± 5.83 a	1.28

注(Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatments at the 5% level.

表 4　番茄幼苗中锌的亚细胞分布

Table 4　Subcellular distribution of Zn in tomato seedlings

器官 Organ	处理 Treatment	锌浓度 Zn concentration (mg/kg, FW)		
		细胞壁 Cell wall	细胞器 Organelle	液泡 Vacuole
根系 Root	CK	21.80 ±4.62 a	23.09 ±2.75 a	8.07 ±0.28 a
	Cu	16.60 ±3.48 ab	5.61 ±0.37 b	5.17 ±1.12 b
	Cu + SNP	11.31 ±1.39 b	5.65 ±1.01 b	9.88 ±2.01 a
	Cu + SNP + Hb	22.13 ±1.48 a	5.65 ±1.48 b	8.56 ±1.22 a
茎 Stem	CK	15.34 ±1.48 ab	17.02 ±2.15 a	16.34 ±1.17 bc
	Cu	12.47 ±1.23 b	12.41 ±1.49 b	19.27 ±1.78 b
	Cu + SNP	17.38 ±4.61 a	11.66 ±1.25 b	25.14 ±2.89 a
	Cu + SNP + Hb	14.94 ±0.78 ab	10.23 ±0.10 b	14.65 ±1.61 c
叶柄 Petiole	CK	1.93 ±0.11 b	4.05 ±0.52 a	3.38 ±0.77 bc
	Cu	2.10 ±0.74 b	1.78 ±0.55 b	2.75 ±0.74 c
	Cu + SNP	5.33 ±0.84 a	1.97 ±0.06 b	4.72 ±0.75 b
	Cu + SNP + Hb	5.17 ±1.22 a	2.26 ±0.74 b	7.14 ±0.69 a
叶片 Leaf	CK	9.70 ±0.95 b	11.02 ±1.46 ab	11.14 ±1.75 c
	Cu	11.47 ±1.08 a	8.21 ±1.25 c	15.02 ±1.58 c
	Cu + SNP	7.35 ±0.98 c	9.57 ±1.23 b	27.95 ±3.59 a
	Cu + SNP + Hb	9.81 ±0.21 b	12.11 ±0.56 a	21.91 ±1.93 b

注(Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatments at the 5% level.

Cu 胁迫处理比 CK 番茄幼苗茎细胞中液泡的 Zn 含量有所提高。Cu 胁迫处理下,番茄幼苗茎细胞中液泡的 Zn 含量比 CK 提高 17.9%,而细胞壁和细胞器 Zn 含量则比 CK 分别降低了 18.7% 和 27.1%。添加外源 SNP 后(Cu + SNP),细胞壁和液泡 Zn 含量占茎细胞 Zn 总含量的比例与 Cu 胁迫处

理相比分别升高 3.8% 和 2.8%,细胞器 Zn 含量所占比例降低了 6.6%。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),不同亚细胞的 Zn 含量均显著降低。

Cu 胁迫处理显著提高了番茄幼苗叶柄细胞中细胞壁的 Zn 含量,比 CK 提高 8.8%,而细胞器和液泡的 Zn 含量分别降低 56.0%、18. 6%。与 Cu 胁迫处理相比,添加外源 SNP (Cu + SNP)后显著增加番茄幼苗根细胞中不同亚细胞结构中的 Zn 含量,细胞壁、细胞器和液泡的 Zn 含量分别提高了 153.8%、10.7% 和 71.6%。添加血红蛋白后,即 Cu + SNP + Hb 处理细胞壁中 Zn 含量比 Cu + SNP 处理降低 3.0%,但差异不显著,细胞器和液泡 Zn 含量分别提高了 14.7% 和 51.3%。

Cu 胁迫处理下,番茄幼苗叶片细胞中细胞壁和液泡的 Zn 含量比 CK 分别提高了 18.2% 和 34.8%,而细胞器中 Zn 含量降低 25.5%。添加外源 SNP 后,细胞器和液泡中 Zn 含量比 Cu 胁迫处理分别提高 16.6% 和 86.1%,而细胞壁中 Zn 含量下降 35.9%。添加血红蛋白后,细胞壁和细胞器的 Zn 含量占叶片细胞 Zn 总含量的比例与 Cu + SNP 处理相比分别提高了 6.0% 和 6.3%,液泡的 Zn 含量所占比例显著下降,降低幅度为 12.3%。

2.6 外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄幼苗 Mn 含量及累积量的影响

由表 5 可以看出,番茄幼苗各部位的 Mn 含量和累积量变化幅度较大,番茄幼苗各部位的 Mn 含量和累积量在不同处理间差异显著。与对照(CK)相比,Cu 胁迫处理下,番茄幼苗根系、叶柄和叶片 Mn 含量分别比对照增加了 15.2%、20.7%、29.2%,茎中 Mn 含量减少 39.3%。添加外源 SNP (Cu + SNP)可显著提高 Cu 胁迫下番茄幼苗根系和茎的 Mn 含量,分别比 Cu 胁迫处理下提高 14.6% 和 40.2%; 但叶柄和叶片 Mn 含量显著降低了 34.8% 和 30.2%。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),番茄幼苗根系和茎中的 Mn 含量降低了 5.1% 和 18.8%,而叶柄和叶片中的 Mn 含量显著增加了 72.7% 和 27.3%。

表 5 番茄幼苗不同部位的锰含量和累积量

Table 5 Mn concentration and accumulation in different parts of tomato seedlings

处理 Treatment	锰含量 Mn concentration (mg/kg, FW)				锰累积量 Mn accumulation (μg/plant)				转运因子 Transport factor
	根系 Root	茎 Stem	叶柄 Petiole	叶片 Leaf	根系 Root	茎 Stem	叶柄 Petiole	叶片 Leaf	
CK	41.99 ± 1.63 d	55.88 ± 4.64 a	27.09 ± 2.59 c	15.81 ± 0.95 c	33.10 ± 1.29 b	92.83 ± 7.71 a	20.58 ± 1.96 b	24.18 ± 1.46 c	4.16
Cu	48.36 ± 1.26 c	33.93 ± 1.67 c	32.68 ± 1.21 b	20.43 ± 1.39 a	15.23 ± 0.40 d	43.69 ± 2.15 c	31.05 ± 1.15 a	27.29 ± 1.86 b	6.70
Cu + SNP	55.40 ± 0.98 a	47.56 ± 1.08 b	21.32 ± 1.75 d	14.26 ± 0.84 c	21.38 ± 0.38 c	90.06 ± 2.05 a	20.55 ± 1.68 b	17.90 ± 1.05 d	6.01
Cu + SNP + Hb	52.58 ± 1.26 b	38.62 ± 2.21 c	36.82 ± 1.92 a	18.15 ± 0.46 b	44.85 ± 1.074 a	57.93 ± 3.32 b	28.97 ± 1.51 a	31.51 ± 0.80 a	2.64

注(Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatments at the 5% level.

与对照相比,Cu 胁迫处理下,番茄幼苗叶柄和叶片的 Mn 累积量显著增加,根系和茎中的 Mn 累积量显著降低。与 Cu 胁迫处理相比,添加外源 SNP 显著提高了番茄根系和茎中 Mn 的累积量,显著降低叶柄和叶片中 Mn 的累积量。添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),番茄幼苗茎中 Mn 累积量显著降低,根系、叶柄和叶片中 Mn 累积量显著增加。

CK 处理的 Mn 转运因子(TF)为 4.16,Cu 胁迫处理后转运因子为 6.70,添加外源 SNP 使 TF 降低为 6.01,表明外源 SNP 能显著降低根系中的 Mn 向地上部转运。

2.7 外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄幼苗 Mn 的亚细胞分布的影响

由表 6 可知,与对照(CK)相比,Cu 胁迫显著降低番茄幼苗根系细胞中不同亚细胞的 Mn 含量,细胞壁、细胞器和液泡的 Mn 含量分别降低 65.2%、

47.1%和 82.8%。添加外源 SNP(Cu + SNP)可提高细胞器的 Mn 含量,比 Cu 胁迫处理提高 12.7%,而细胞壁和液泡的 Mn 含量分别降低 12.2% 和 6.0%。与 Cu + SNP 处理相比,添加血红蛋白后(Cu + SNP + Hb),番茄幼苗根系不同亚细胞结构的 Mn 含量显著提高,细胞壁、细胞器和液泡的 Mn 含量分别提高了 252.7%、101.1%和 43.6%。

表 6　番茄幼苗中锰的亚细胞分布

Table 6　Subcellular distribution of Mn in tomato seedlings

器官 Organ	处理 Treatment	锰浓度 Mn concentration (mg/kg, FW)		
		细胞壁 Cell wall	细胞器 Organelle	液泡 Vacuole
根系 Root	CK	51.73 ± 2.72 b	23.59 ± 1.70 b	53.55 ± 5.31 a
	Cu	18.01 ± 0.722 c	12.48 ± 1.22 c	9.19 ± 0.49 b
	Cu + SNP	15.82 ± 0.55 c	14.07 ± 0.66 c	8.64 ± 0.42 b
	Cu + SNP + Hb	55.79 ± 1.03 a	28.29 ± 0.78 a	12.41 ± 1.09 b
茎 Stem	CK	11.58 ± 1.49 a	16.63 ± 1.11 c	15.32 ± 0.50 a
	Cu	12.32 ± 0.66 a	42.58 ± 0.72 a	14.94 ± 0.78 a
	Cu + SNP	13.72 ± 1.32 a	22.89 ± 1.89 b	13.92 ± 0.95 a
	Cu + SNP + Hb	11.56 ± 0.997 a	25.05 ± 1.72 b	11.06 ± 0.80 b
叶柄 Petiole	CK	9.72 ± 0.42 b	9.67 ± 1.25 a	7.31 ± 0.752 c
	Cu	12.36 ± 1.57 a	7.52 ± 0.18 b	12.19 ± 1.45 b
	Cu + SNP	14.59 ± 1.87 a	7.72 ± 0.66 b	15.52 ± 0.77 a
	Cu + SNP + Hb	8.57 ± 1.26 b	8.67 ± 0.59 ab	13.07 ± 1.46 b
叶片 Leaf	CK	33.61 ± 0.31 b	14.58 ± 2.52 b	11.99 ± 0.36 c
	Cu	50.70 ± 4.10 a	24.76 ± 2.97 a	12.32 ± 1.09 bc
	Cu + SNP	29.07 ± 3.31 bc	16.07 ± 4.05 b	13.72 ± 0.66 a
	Cu + SNP + Hb	25.29 ± 0.96 c	19.59 ± 2.42 ab	13.45 ± 0.45 ab

注(Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatments at the 5% level.

Cu 胁迫处理下,番茄幼苗茎细胞中细胞壁和细胞器的 Mn 含量比对照分别提高了 6.4% 和 156.0%,而液泡 Mn 含量降低 2.5%。添加外源 SNP 后,细胞壁和液泡 Mn 含量与 Cu 胁迫处理相比差异不显著,而细胞器 Mn 含量显著降低 46.2%。添加血红蛋白后,细胞壁和液泡 Mn 含量比 Cu + SNP 处理分别降低了 15.7% 和 20.5%,细胞器 Mn 含量提高 9.4%。

Cu 胁迫处理显著提高了番茄幼苗叶柄细胞中细胞壁和液泡的 Mn 含量,分别比对照提高 27.2% 和 66.8%,而细胞器的 Mn 含量显著降低 22.2%。与 Cu 胁迫处理相比,添加外源 SNP 后显著增加番茄幼苗根细胞中不同亚细胞结构的 Mn 含量,细胞壁、细胞器和液泡 Mn 含量分别提高 18.0%、2.7%和 27.3%。添加血红蛋白后,细胞壁和液泡 Mn 含量比 Cu + SNP 处理分别降低了 41.3% 和 15.8%,细胞器 Mn 含量升高 12.3%。

Cu 胁迫下,番茄幼苗叶片细胞壁、细胞器和液泡的 Mn 含量分别比对照提高 50.8%、69.8%和 2.8%。添加外源 SNP 后,液泡中 Mn 含量比 Cu 胁迫处理提高 11.4%,而细胞壁和细胞器 Mn 含量分别下降 43.2% 和 35.1%。添加血红蛋白后,细胞器的 Mn 含量占叶片细胞 Mn 总含量的比例与 Cu + SNP 处理相比提高了 6.3%,细胞壁和液泡的 Mn 含量所占比例分别下降了 6.0% 和 0.3%。

3　讨论与结论

铁(Fe)是生物体生命活动中必需的微量元素

之一,其参与生物体内呼吸作用、光合作用、DNA合成、氮素同化和固定、激素合成、活性氧的形成与消除等重要的生理代谢过程[15]。植物正常生长发育不仅需要从环境中吸收充足的铁,更需要其在植物体内高效运转和在器官中合理分布以保证完成生命周期[16]。本试验中,铜(Cu)胁迫使番茄幼苗各部位的Fe含量和累积量显著降低。这可能是由于过量Cu^{2+}存在竞争性抑制根系对Fe^{2+}的吸收,或者根系积累的大量Cu^{2+}限制了Fe^{2+}向地上部运输。添加外源SNP可显著增加番茄各部位的Fe含量,其中根系和叶柄中Fe含量和累积量最高。而添加血红蛋白可使NO的缓解效果消除。这可能是因为SNP释放出NO,调控质膜上ATPase等功能蛋白活性,提高了Cu胁迫下番茄根系对K、Ca、Fe、Zn等离子的吸收,使其在器官间的分配更加趋于合理,以维持胞质的离子稳态,从而缓解过多铜的毒害[17]。

在正常植株中,Fe主要集中在根系、茎、叶片的细胞壁组分和叶柄的细胞器中,并参与细胞器(线粒体、叶绿体)的大部分生物学功能。液泡是植物细胞铁的主要储存器官,液泡中的Fe主要以植酸铁(Fe-phytate)和烟酰胺铁(Fe-NA)的形式存在。Cu胁迫处理后,Fe的亚细胞分布受到Cu胁迫处理的显著影响,根系和叶片中的多数Fe(40.3%~70.1%)贮存于细胞壁中,少数Fe(7.34%~35.7%)含于液泡中。添加外源SNP可显著增加根系、茎、叶片、叶柄中液泡、细胞器的Fe含量,降低根系和叶片细胞壁Fe含量。添加血红蛋白后,NO的这种作用被减弱。表明外源NO可增强液泡中的酸类物质对过量Fe的螯合,提高根系和叶片细胞壁中Fe的移动性,促进其向细胞器的转移,调节各细胞器对Fe的需求平衡[18]。

研究表明,锌(Zn)在玉米细胞内的分布特征与其吸收和富集重金属能力密切相关[19]。细胞壁固持和液泡区隔化在植物对重金属的解毒、耐性和超富集方面起着重要作用[20]。本试验中,Cu胁迫使番茄幼苗根系Zn含量和累积量显著降低,叶片Zn含量和累积量显著提高。添加外源SNP可显著促进根系Zn的吸收和累积,提高叶片Zn含量和累积量。而添加血红蛋白可使NO的这种作用被削弱。说明正是由于SNP释放的NO作用于根系细胞质膜的磷脂双分子层,维持质膜正常的离子选择性,促进根系对Zn的吸收,缓解质膜受过多Cu的毒害[21-22]。另外,NO作为信号分子参与抗逆信号转导,保护植物细胞免受逆境胁迫的损伤,提高根系和叶片细胞对Zn的吸收和富集[23]。

锌(Zn)在植物细胞的不同部位和细胞器中含量分布不一,胞内区室化分隔有利于保证缺锌和高锌胁迫下植物维持正常的生理代谢[24]。Ma等[25]研究显示,在天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)的叶片中,77%的锌主要储存在原生质体,其中91%的锌出现在液泡中。本试验中,锌主要集中在根系和茎的亚细胞结构中,少量锌存在于叶片和叶柄中。Cu胁迫处理后,Zn的亚细胞分布受到Cu胁迫处理的影响,根系各亚细胞结构和各部位细胞器中Zn含量显著降低,而叶片和叶柄细胞壁中Zn含量小幅提高,另有部分Zn含于茎和叶片的液泡中。添加SNP可显著增加各部位液泡、细胞器的Zn含量,降低根系和叶片细胞壁Zn含量。表明外源NO能促进Zn在番茄体内的吸收和分布,并且影响Zn在细胞器和液泡内的积累,提高各部位细胞器对Zn的需求以及液泡中有机酸、氨基酸和花青素等对过量Zn的储存[26]。

作为植物生命活动所必需的微量元素之一,锰(Mn)过量或缺乏,导致叶绿素合成减少、光合作用受阻、活性氧累积和体内激素失衡,导致生长受阻,尤其是叶部和根尖分生区的生长受到明显的抑制[27]。Xu等[28]利用同步辐射X-射线荧光光谱(synchrotron radiation X-ray fluorescence,SRXRF)微探针对商陆(*Phytolacca acinosa* Roxb)根系、茎和叶片中锰分布的分析结果表明,叶片是锰累积的主要器官,而根系、茎和叶片的维管组织中存在高浓度的锰,有利于其长距离运输和向叶片不同组织中分配。根系主要通过有机酸的螯合作用促进植物对Mn^{2+}的转运解毒,同时能够将过量的Mn^{2+}分隔在细胞壁中;叶片可通过酚类物质或有机酸螯合Mn^{2+},并将其分隔在叶片表皮细胞和叶肉细胞的液泡中[29]。本试验中,Cu胁迫使番茄幼苗叶柄和叶片的Mn含量和累积量显著提高,茎中Mn含量和累积量显著降低,根系Mn含量显著升高。添加SNP可显著增加根系和茎中Mn含量和累积量,降低叶柄和叶片中Mn含量和累积量。添加血红蛋白后NO的这种作用被减弱。表明铜胁迫下,外源NO可能介导了抗氧化酶保护系统,清除根尖细胞活性氧(ROS)引起的氧化损伤,保护细胞膜免受重金属胁迫的伤害,增强根系中有机酸(尤其是草酸、柠檬酸)对过量Mn^{2+}的螯合,同时,促进叶柄和叶片中Mn向茎中转运,提高茎中Mn的补给,缓解Cu

毒害[30-31]。

植物能够将过多重金属离子转运和贮存在特定的组织器官或细胞的特定区域,有效地降低代谢活性区域的金属离子浓度,从而维持正常生理代谢的顺利进行[29]。徐向华等[32]研究发现,随着 Mn^{2+} (500 ~ 5000 μmol/L)处理浓度的升高,叶片各亚细胞组分中的 Mn 含量相应增加,并且细胞质可溶性(含液泡)部分的 Mn 含量增加最大,其次是细胞壁,细胞器中 Mn 含量最少。本试验中,Cu 胁迫处理使番茄根系各亚细胞中 Mn 含量显著降低,叶片各亚细胞中 Mn 含量显著增加,茎和叶柄细胞壁中 Mn 含量小幅提升。SNP 处理显著提高了叶片液泡、细胞器的 Mn 含量,降低茎中液泡和细胞器的 Mn 含量,显著提高茎和叶柄细胞壁的 Mn 含量,降低根系和叶片细胞壁 Mn 含量。表明 Cu 胁迫下,各部位亚细胞中 Mn 含量的区域化分布可能与 Mn^{2+} 与 Cu^{2+} 具有协同吸收作用有关[33]。外源 NO 能促进 Cu 胁迫下 Mn^{2+} 与 Cu^{2+} 协同吸收作用,使 Mn 的区域化分布加强,进一步提高茎和叶柄细胞壁对 Mn^{2+} 的固着,促进叶片液泡中有机酸盐对 Mn^{2+} 的沉积及叶片中各细胞器对 Mn^{2+} 的吸收利用。

从番茄幼苗各部位及亚细胞中 Fe、Zn、Mn 含量和累积量的分布来看,同正常营养液处理相比,外源 NO 在 Cu 胁迫逆境下可以显著提高 Fe、Zn、Mn 的选择性吸收,调控番茄幼苗各部位及亚细胞中 Fe、Zn、Mn 的合理分布,维持胞质离子稳态和矿质营养元素平衡,缓解铜胁迫,保证番茄幼苗正常的生理代谢。

参 考 文 献:

[1] 王晓兰, 周守标, 杨集辉, 等. 铜胁迫对弯囊苔草(*Carex dispalata*)生长和生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(2): 264-269.
Wang X L, Zhou S B, Yang J H *et al*. Copper stress on the growth and some physiological parameters of *Carex dispalata*[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(2): 264-269.

[2] 谢建春, 赵娟, 杨世勇. 铜尾矿对油菜生长和生理功能的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(2): 74-79.
Xie J C, Zhao J, Yang S Y. Effects of copper mine tailings on growth and physiological functions of *Brassica campestris* [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2009, 25(2): 74-79.

[3] Sharma S S, Dietz K J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(1): 43-50.

[4] Wojcik M, Tukiendorf A. Response of wild type of *Arabidopsis thaliana* to copper stress[J]. Biologia Plantarum, 2003, 46(1): 79-84.

[5] 高晓宁. 土壤重金属污染现状及修复技术研究进展[J]. 现代农业科技, 2013, (9): 229-231.
Gao X N. Research advances on soil heavy metal pollution and remediation technology [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2013, (9): 229-231.

[6] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide: a non-traditional regulator of plant growth[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(11): 508-509.

[7] Tan Y W, Xu Y F, Zhou H. Effects of nitric oxide on seed germination and seedling growth of tall fescue under salt stress [J]. Acta Agrestia Sinica, 2010, 18(3): 394-398.

[8] 张敏, 姜春辉, 李晓云, 崔秀敏. 外源 NO 对铜胁迫下番茄幼苗根系构型及其超微结构的影响[J]. 植物生理学报, 2012, 48(11): 1105-1112.
Zhang M, Jiang C H, Li X Y, Cui X M. Effects of exogenous nitric oxide on tomato seedlings root architecture and ultrastructure under copper stress [J]. Plant Physiology Journal, 2012, 48(11): 1105-1112.

[9] 张敏, 姜春辉, 崔秀敏. 外源 NO 供体硝普钠(SNP)对铜胁迫下番茄幼苗生理生化指标的影响[J]. 植物生理学报, 2013, 49(2): 144-152.
Zhang M, Jiang C H, Cui X M. Effects of exogenous nitric oxide donor SNP on physiological and biochemical indexes in tomato seedlings under copper stress [J]. Plant Physiology Journal, 2013, 49(2): 144-152.

[10] 李兴华, 方子森, 牛俊义. 大量及微量元素对胡麻幼苗生长发育的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2013, 48(1): 42-48.
Li X H, Fang Z S, Niu J Y. Effects of major and trace elements on growth and development of flax seedlings [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2013, 48(1): 42-48.

[11] 姜春辉, 王秀峰, 尹博, 等. 外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄 Cu 的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(11): 3033-3039.
Jang C H, Wang X F, Yin B *et al*. Effects of exogenous nitric oxide on the subcellular distribution and chemical forms of copper in tomato seedlings under copper stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(11): 3033-3039.

[12] Weigel H J, Jäger H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plant[J]. Plant Physiology, 1980, 65: 480-482.

[13] Rathore V S, Baiai Y P, Wittwer S H. Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tissues[J]. Plant Physiology, 1972, 49: 207-211.

[14] 段曼莉, 付冬冬, 王松山, 等. 亚硒酸盐对四种蔬菜生长、吸收及转运硒的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(3): 658-665.
Duan M L, Fu D D, Wang S S *et al*. Effects of different selenite concentrations on plant growth, absorption and transportation of selenium in four different vegetables [J]. Acta Scientiae

Circumstantiae, 2011, 31(3): 658-665.

[15] 申红芸, 熊宏春, 郭笑彤, 左元梅. 植物吸收和转运铁的分子生理机制研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(6): 1522-1530.
Sheng H Y, Xiong H C, Guo X T, Zuo Y M. Progress of molecular and physiological mechanism of iron uptake and translocation in plants [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 17(6): 1522-1530.

[16] Morrissey J, Guerinot M L. Iron uptake and transport in plants: the good, the bad, and the ionome [J]. Chemical Reviews, 2009, 109(10): 4553-4567.

[17] Zhang Y K, Han X J, Chen X L *et al*. Exogenous nitric oxide on antioxidative system and ATPase activities from tomato seedlings under copper[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 123(2): 217-223.

[18] Graziano M, Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide improves internal iron availability in plants[J]. Plant Physiology, 2002, 130: 1852-1859.

[19] 周建民, 党志, 陶雪琴,周永章. NTA 对玉米体内 Cu、Zn 的积累及亚细胞分布的影响[J]. 环境科学, 2005, 26(6): 126-130.
Zhou J M, Dang Z, Tao X Q, Zhou Y Z. Influence of NTA on accumulation and subcellular distribution of copper and zinc in corn (*Zea mays*) [J]. Environmental Science, 2005, 26(6): 126-130.

[20] 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.

[21] 张远兵, 刘爱荣, 方蓉. 外源一氧化氮对镉胁迫下黑麦草生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 草业学报, 2008, 17(4): 57-64.
Zhang Y B, Liu A R, Fang R. Effect of exogenous nitric oxide on the growth and antioxidant enzyme activities of Lolium perenne under Cd stress[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2008, 17(4): 57-64.

[22] 张义凯, 韩小娇, 金洪, 等. 外源 NO 对铜胁迫下番茄光合、生物发光特性及矿质元素吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 172-178.
Zhang Y K, Han X J, Jin H *et al*. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthetic, bioluminescent characteristics and mineral element contents in tomato under copper stress[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(1): 172-178.

[23] 彭金英, 黄勇平. 植物防御反应的两种信号转导途径及其相互作用[J]. 植物生理与分子生物学报, 2005, 31(4): 347-353.
Peng J Y, Huang Y P. The signaling pathways of plant defense response and their interaction[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2005, 31(4): 347-353.

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

[25] Ma J F, Ueno D, Zhao F J *et al*. Subcellular localization of Cd and Zn in the leaves of a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens*[J]. Planta, 2005, 220(5): 731-736.

[26] Cosio C, Martinoia E, Keller C. Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level[J]. Plant Physiology, 2004, 134(2): 716-725.

[27] Santandrea G, Schiff S, Bennici A. Effects of manganese on Nicotiana species cultivated in vitro and characterization of regenerated Mn-tolerant tobacco plants [J]. Plant Science, 1998, 132(1): 71-82.

[28] Xu X H, Shi J Y, Chen Y X *et al*. Distribution and mobility of manganese in the hyperaccumulator plant *Phytolacca acinosa* Roxb. (Phytolaccaceae) [J]. Plant and Soil, 2006, 285(1-2): 323-331.

[29] 张玉秀, 李林峰, 柴团耀, 等. 锰对植物毒害及植物耐锰机理研究进展[J]. 植物学通报, 2010, 45(4): 506-520.
Zhang Y X, Li L F, Chai T Y *et al*. Mechanisms of manganese toxicity and manganese tolerance in plants[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, 45(4): 506-520.

[30] Mora M L, Rosas A, Ribera A *et al*. Differential tolerance to Mn toxicity in perennial ryegrass genotypes: involvement of antioxidative enzymes and root exudation of carboxylates [J]. Plant and Soil, 2009, 32(1-2): 79-89.

[31] 赵宝泉, 万宇, 杨世湖, 等. 外源 NO 供体硝普钠(SNP)对重金属 Cd 胁迫下水稻幼苗膜脂过氧化及抗氧化酶的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(3): 468-475.
Zhao B Q, Wan Y, Yang S H *et al*. Effects of exogenous nitric oxide donor SNP on membrane lipid peroxidation and activity of antioxidative enzyme in rice seedlings under Cd stress [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2010, 26(3): 468-475.

[32] 徐向华, 施积炎, 陈新才, 等. 锰在商陆叶片的细胞分布及化学形态分析[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 515-520.
Xu X H, Shi J Y, Chen X C *et al*. Subcellular distribution and chemical fractions of manganese in leaves of hyper accumulator phytolacca acinosa roxb [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(2): 515-520.

[33] 倪才英, 刘永厚, 赵振纪. 赣东北土壤中铜的毒害作用研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 1999, 23(2): 170-173.
Ni C Y, Liu Y H, Zhao Z J. A study on toxicity of copper in soil of northeast Jiangxi province [J]. Journal of Jiangxi Normal University(Natural Sciences Edition), 1999, 23(2): 170-173.