

植物对土壤重金属镉抗性的研究进展

薛永¹, 王苑嫻¹, 姚泉洪¹, 宋科², 郑宪清², 杨建军^{2*}

1. 上海市农业科学院生物技术研究所, 上海 201106; 2. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403

摘要: 各种人类活动, 如采矿、制革、冶炼、污水灌溉等引起土壤和水体重金属污染, 严重威胁着植物生长和人类健康。重金属镉污染是最常见的一种。该文描述了受重金属镉胁迫时植物的生理机制及各种抑制表现, 如线粒体的裂解, 细胞的生长分裂、水分的吸收、光合作用受到抑制等; 同时也从微生物和细胞分子生物学方面分析了植物对重金属镉胁迫的应对策略, 它依赖于植物本身和周围生存微环境的通力合作, 主要包括降低对重金属的利用、控制重金属的吸收、螯合重金属、促进重金属的排出、区室化重金属和对重金属诱导的活性氧基团进行解毒等几条途径。另外, 植物体对土壤环境中重金属镉的吸收、转运和解毒是一个精密的调控过程, 参与重金属吸收和排出的转运蛋白在整个调控过程中发挥关键作用, 参与了吸收、螯合、区室化和代谢利用等关键步骤。非必需重金属转运蛋白分重金属吸收蛋白和重金属排出蛋白 2 大类, 吸收蛋白主要有 *AtNRAMP*、*ZNT* 和 *OsIRT* 等, 能够通过某一种或几种阳离子转运载体蛋白运输至植物体内; 排除蛋白主要包括 P_{1B} 型 ATP 酶、阳离子转运促进蛋白家族 (CDF) 和三磷酸结合盒转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter, ABC 转运蛋白) 3 大蛋白家族, 主要将重金属转运出细胞质或者将重金属转运进入植物体内的细胞器, 转运蛋白在植物耐受重金属胁迫中起着积极的防御作用。该文探讨了植物对重金属镉胁迫的各种抗性机制, 可为土壤重金属镉污染的修复如微生物修复、植物修复等提供一定的理论依据和应用指导。

关键词: 镉; 重金属; 植物修复; 土壤污染

中图分类号: X171.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906 (2014) 03-0528-07

引用格式: 薛永, 王苑嫻, 姚泉洪, 宋科, 郑宪清, 杨建军. 植物对土壤重金属镉抗性的研究进展[J]. 生态环境学报, 2014, 23(3): 528-534.

XUE Yong, WANG Yuanyuan, YAO Quanhong, SONG Ke, ZHENG Xianqing, YANG Jianjun. Research progress of plants resistance to heavy metal Cd in soil [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(3): 528-534.

在世界范围内, 重金属污染已引起社会各界的广泛关注, 其防治和修复技术越来越成为实验研究的焦点。镉污染是最常见的重金属污染之一, 在土壤中具有较强的化学活性, 与其他重金属相比, 更易被植物吸收, 存留在植物的可食用部分, 并通过食物链富集在人体中, 从而危害人体健康(陈圣安, 2011)。1955—1972年, 日本富山县的骨痛病就是镉中毒的很好例证, 给人们敲响了重金属镉污染的警钟(李开军, 2011)。据报道, 我国受镉污染的农田面积已达 $2 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 并有逐渐恶化的趋势(陈圣安, 2011); 另外, 土壤重金属镉污染具有隐蔽性、长期性和不可逆性的特点, 这将对农作物生长构成威胁, 严重影响我国粮食产量(何荷兰等, 2009)。利用植物修复的方法, 来清除受重金属污染的土地, 是一种花费低、适应性广、无二次污染物的方法。但是, 目前传统的植物修复方法存在效率低下的问题。为了更好地治理土壤重金属污染, 修

复生态环境, 保证农业可持续发展和人类健康生存, 我们亟需开发一种高效创新的植物修复方法。因此, 本文通过对植物镉抗性机理和分子机制进行研究, 以期采用植物基因工程技术创造高效的植物修复体奠定基础。

1 植物受镉的毒害

植物受镉毒害时, 一般情况表现为细胞以及整个植株的生长发育受到较强抑制, 线粒体和叶绿体受到较大破坏, 导致呼吸作用和光合作用受到影响; 叶片发黄, 植株生物量下降, 干质量减轻(Kessler 和 Brand, 1995); 保卫细胞中的水分和离子迁移受到较大影响, 导致整个植株缺水、萎蔫(王永锐和周建华, 1997)。同时, 植物细胞膜透性增大, 体内游离脯氨酸积累增多, 严重者导致植株死亡(李梦梅和龙明华, 2005)。镉主要影响植物以下生理代谢。

1.1 抑制细胞生长分裂

镉胁迫抑制细胞分裂及植株生长发育。实验表

基金项目: 国家自然科学基金项目(30800602); 上海市浦江人才计划项目(11PJ1408500); 上海市农业科学院“攀高计划”项目

作者简介: 薛永(1979年生), 男, 研究员, 博士, 研究方向为植物修复土壤重金属污染。E-mail: xueyong@saas.sh.cn

*通信作者, E-mail: yangjianjun@saas.sh.cn

收稿日期: 2014-01-05

明, 镉对生长素载体的影响与细胞的伸长生长受到抑制有关系 (Barcelo 和 Poschenrieder, 1990)。刘东华等在研究镉对洋葱根尖细胞分裂生长的影响时, 发现其是通过影响钙调蛋白参与纺锤丝微管蛋白的组装和拆卸来抑制细胞分裂的 (刘东华等, 1992)。

1.2 抑制植物光合作用

植物吸收重金属镉后, 体内叶绿素合成受抑制, 最终导致光合作用受制。用镉处理处于分蘖期的水稻植株, 发现水稻叶片中叶绿素含量明显降低, 而且叶绿素 a 比叶绿素 b 降低得少 (刘厚田等, 1986)。由此说明, 重金属镉对处于分蘖期的水稻叶片色素具有显著影响。

1.3 影响植物的水分吸收

镉胁迫会削弱植物对水分胁迫的忍耐性。在相对水分含量和叶片水势比较高的情况下, 植物细胞壁的弹性变差, 使得膨压丧失, 从而造成植物对水分胁迫的耐性降低。

当用镉处理植物后, 植物叶片的气孔阻力会增加, 导致植物叶片上气孔孔径缩小, 蒸腾作用速率减慢, 使得植物对水分吸收和运输的主要动力减弱。另外, 镉还能引起木质部细胞壁的退化, 同时减少木质部对水分的运输, 最终导致植株萎蔫。

1.4 影响植物呼吸作用

线粒体是受镉毒害时较敏感的细胞器。莼菜受重金属镉毒害时, 叶片叶肉细胞的线粒体先发生解体, 核仁分裂成许多个碎块 (丁小余等, 1998)。镉离子可以增加线粒体氢离子的被动通透性, 阻止线粒体的氧化磷酸化作用; 还可以增加植物气孔阻力, 直接影响保卫细胞中水分和离子的迁移, 使植物呼吸作用受阻。彭明等人 (1991) 在研究镉离子对玉米幼苗伤害时观察到质体基粒解体或肿胀的现象。

2 植物应对重金属胁迫的策略

重金属对植物的毒性取决于植物生存环境中重金属的浓度、胁迫时间、植物表型和植物总体状态。而且, 植物对必需元素和非必需元素的反应是不同的。由于重金属微量元素如 Co、Cu、Fe、Mn、Mo、Ni 和 Zn 等在植物的生长发育过程起重要作用 (Hansch 和 Mendel, 2009), 所以保持这些重金属元素的平衡是非常重要的。植物体内拥有严格的调控机制来调节重金属微量元素的平衡, 只有当这个机制达到它的能力极限, 而且重金属微量浓度又达到一个临界值时, 它们才会发挥出毒性来 (Appenroth, 2010)。Cd 是一种非常强大的酶活性抑制剂, Cd 能够导致线粒体的变性, 和有丝分裂的畸形, 最终抑制分生组织的细胞增殖和分裂 (Das

等, 1997)。Cd 也会破坏叶绿体, 导致叶绿体中活性氧簇 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的产生 (Siedlecka 和 Krupa, 1996)。即使在非常低的浓度时, 这些非必需的重金属也会引起植物细胞的强烈反应 (Appenroth, 2010)。在重金属胁迫下, 对非必需重金属的排除、解毒和隔离对于植物的存活具有非常重要的意义。

植物细胞长时间暴露在重金属条件下, 会引起膜变性、离子渗出、脂质过氧化、DNA/RNA 变性, 最终导致细胞的死亡。在细胞水平上, 高等植物通常会利用一种或者几种潜在的途径来避免或者忍耐重金属: (1) 降低植物体对重金属的利用; (2) 控制重金属的吸收; (3) 螯合重金属; (4) 促进重金属的排除; (5) 区室化重金属; (6) 对重金属诱导的活性氧基团进行解毒。

2.1 降低植物体对重金属的利用

2.1.1 根际微生物

土壤中重金属的生物利用效率取决于这种重金属是否易于被植物吸收。生物利用效率很大程度上由植物根际微生物决定。根际微生物能够通过改变 pH 值来改变金属的溶解性、移动性、利用性和专一性 (Gadd, 2010)。根菌的存在 (专一的土壤真菌与大多数植物导管的根部存在互利共生关系) 能够促进植物对重金属的解毒和增强植物对重金属的忍耐力 (Jentschke 和 Godbold, 2000)。铜绿假单胞菌 (*P. Aeruginosa*) 通过提高对土壤中 Cd^{2+} 的利用率, 来降低南瓜和芥末对 Cd^{2+} 的吸收。为了阻止 Cd 流入它们的宿主体内, Cd^{2+} 还会被结合到富含硫基的化合物中, 如谷胱甘肽和 γ -谷氨酰半胱氨酸等 (Courbot 等, 2004), 以此来降低植物对镉的利用率。

2.1.2 细胞壁

细胞壁是植物接触重金属的第一个结构, 包含木栓质和低聚果糖。木栓质在大量存在根内皮层细胞壁中, 它可作为一道屏障来控制细胞体对水和矿物质的吸收, 并且影响营养矿物质的积累和转运 (Baxter 等, 2009)。低聚果糖包含多糖, 能够结合二价和三价的重金属离子 (Krzewska 等, 2011)。绝大多数的必需元素和非必需元素以二价离子的形式进入植物体内, 比如 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cu^{2+} 。因此, 植物体通过改变细胞壁的成分来促进重金属阳离子结合至细胞壁, 能够减少自身对有毒金属的吸收。在镉胁迫条件下, 发现拟南芥中木质素生物合成基因和细胞增大基因数量变多, 然而在遏蓝菜 (*N. Caerulescens*) 中却一直维持高水平表达 (Van 等, 2008)。由此可知, 对 Cd^{2+} 敏感的物种比如拟南芥 (*A. Thaliana*) 等植物体可利用木质

素作为一道物理屏障来阻止 Cd^{2+} 进入植物体。

2.1.3 金属沉淀

金属沉淀是重金属进入植物体的另一个限制途径,正如在重金属超水平积累的植物圆叶南芥 (*Arabidopsis halleri*) 中,镉的磷酸盐化合物在根表皮层的细胞壁外积累较多 (Kupper 等, 2000)。说明潜在的根细胞壁结构能够减少植物体对重金属的生物利用率,从而增强植物对重金属的忍耐力。

2.2 控制植物体对重金属镉的吸收

重金属进入植物共质体有几种方法:简单的扩散、通道蛋白的被动运输、或者转运蛋白的主动运输。其中,转运蛋白的主动运输起主要作用。这类转运蛋白一般被称为金属转运蛋白,其对不同的重金属具有不同的转运能力。 Cd^{2+} 在化学性质上类似于 Zn 和 Fe。目前,还没有报道镉在植物细胞中有特异的转运蛋白,植物体对镉的吸收很可能是通过 ZIP 转运蛋白进行的,这个转运蛋白对 Zn^{2+} 或 Fe^{2+} 有较强的特异转运能力,但是对镉的运输能力较差 (Pence 等, 2000; Korshunova 等, 1999)。因此,根细胞中 Cd^{2+} 的吸收存在一定的偶然性。遏蓝菜 (*N. Caerulescens*) 对镉的超高吸收,最终都积累到木质部汁液中 (Lombi 等, 2001)。在铁缺乏的条件下,IRT1 基因可被强烈地诱导,引起植物体对镉的较强吸收。然而,这个观点至今尚未被得到证实 (Lombi 等, 2002; Plaza 等, 2007)。

2.3 整合重金属,形成结合复合物

重金属通过细胞膜一般需要被配体整合,以此减少与细胞复合物不必要的联系。这些配体有寡肽、有机酸、氨基酸和蛋白质等。重金属-配体复合结构是重金属平衡分子机理中的重要组成部分,而金属整合产物在植物体抗重金属胁迫过程中扮演重要的角色。相比重金属非超积累物种,重金属超积累物种中有更高的植物螯合肽积累,这表明植物螯合肽在重金属解毒、重金属隔离和重金属排除等方面起着重要的作用。

2.3.1 烟草胺

烟草胺是非蛋白质氨基酸,在体外实验中,对一系列过渡金属有强亲和力,如 Cu、Ni、Co、Zn、Fe 和 Mn。研究表明,Zn-烟草胺形成的复合结构能存在于生物体内,比如裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) (Benes 等, 1983; Tramczynska 等, 2010)。金属-烟草胺复合物通过 YSL 转运蛋白透过细胞膜,这个复合物是调节植物体内金属平衡的重要元件 (Curie 等, 2009)。

2.3.2 谷胱甘肽

谷胱甘肽 (GSH) 是一个 γ -Glu-Cys-Gly 的三肽,既是金属螯合剂、细胞抗氧化剂也是 ROS 信

号分子,对金属解毒有重要作用 (Jozefczak 等, 2012; Seth 等, 2012)。谷胱甘肽 (GSH) 的巯基部分对金属有强亲和力。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中 GSH 合成酶基因 GSH1 和 GSH2 的表达易受 Cd^{2+} 诱导,从而引起对镉的抗逆,故 GSH 水平的降低会减弱植物对 Cd^{2+} 的抗逆能力 (Semane 等, 2007; Wojcik 和 Tukiendorf, 2011)。在水稻中,镉耐受品种相对于对镉敏感品种,拥有更高水平的 GSH (Cai 等, 2011)。GSH 是细胞内氧化状态的还原剂,反应产生的 GSH 快速与其他 GSH 结合生成 GSSG; 因此, GSH 作为一个 ROS 信号分子主要通过于 GSH/GSSG 的比值来反映植物细胞的氧化水平。在镉处理下,拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 GSH/GSSG 比值会下降。在镉胁迫条件下,超富集植物东南景天 (*Sedum alfredii*) 的 GSH/GSSG 比值比非超富集植物更高,ROS 产物比非超富集植物更少 (Tian 等, 2011)。

2.3.3 金属硫蛋白

金属硫蛋白 (MTs) 是富含半胱氨酸的小分子蛋白质,包含金属结合结构,其巯基部分可以和二价金属离子反应 (Cobbett, 2000),存在于绝大多数真核生物中。在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中,有 6 种 MTs: MT1a, MT2a, MT2b, MT3, MT4a 和 MT4b。其中,MT1, MT2, MT3 可以增强植物体对 Cd^{2+} 的忍耐力,但是不能积累 Cd^{2+} 。在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中,MT1a 对镉的忍耐和积累是必需的,MTs 和 PCs (植物螯合肽) 可以共同保护拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 免受镉的毒害 (Guo 等, 2008)。与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 相比,MT1 和 MT2 基因在遏蓝菜 (*N. Caerulescens*) 中的表达更充分,这表明植物对重金属的忍耐力与 MT1 和 MT2 基因相关联 (Roosens 等, 2005)。

2.4 促进重金属镉排出

植物中克服大量重金属进入体内的另外一条途径来是从细胞中释放出重金属,这些重金属或被释放到土壤中,或存在于质外体。在非忍耐、非富集植物中,根部转运蛋白直接将重金属排到土壤中;然而,对于重金属超富集植物,在重金属被运输至茎部的过程中,主动排除系统会直接将重金属转运至木质部。

目前为止,镉特异的转运蛋白尚未被发现,这可能意味着镉流出是伴随在其它重金属离子的转运过程中的,这些转运蛋白对其它重金属具有更高的亲和力。研究较多的锌排除转运蛋白是 HMA4,位于质膜,主要将锌转运至木质部,参与锌和镉的吸收。在拟南芥中发现,过量锌条件下,根部 HMA4 基因被促进,然而在过量镉条件下,该基因被抑制

(Mills 等, 2003)。同时, 在拟南芥中, 有一些其他的转运蛋白也参与镉的重新分配、转运和解毒, 比如由 PCR1 和 PCR2 基因编码的蛋白。位于质膜的 PCR1, 通过将镉排出细胞, 降低植物体内镉含量, 来增强植物对镉的忍耐力; 另一个位于质膜的转运蛋白 PCR2, 通过将镉从根部表皮细胞中排出, 增强拟南芥对镉的抗逆。

2.5 重金属镉的区室化

区室化重金属是一个降低细胞质重金属浓度的重要策略。植物通常将重金属储存在液泡中, 液泡是一个易于被调控的内部储存结构, 通常会将有有机矿物质储存其中, 可供植物随时备用。非抗逆性物种会在根部液泡积累较高浓度的重金属离子, 以阻止重金属被转运至进行光合作用的叶片组织, 从而避免重金属的高度累积对植物产生伤害; 相反, 能适应重金属胁迫的物种在茎部有较强的重金属隔离能力, 能够减少根部液泡的重金属含量。重金属 ATP 酶 HMA3 是 P_{1B} 类 ATP 合酶大家族的一个成员, HMA3 被认为很可能是植物体镉隔离行为的参与者。水稻 HMA3 转运蛋白, 可从镉低富集的水稻中分离而得, 位于根细胞的液泡膜外部, 它的作用是选择性地限制镉从根部转运至茎部 (Ueno 等, 2009; Ueno 等, 2010)。HMA3 也促进拟南芥液泡对重金属的贮存能力, 从而增强植物体对镉、钴、铅和锌的忍耐力。

2.6 对重金属镉诱导的 ROS 进行解毒

重金属的毒性会诱导活性氧基团 (ROS) 的产生, 比如超氧化物 ($O_2^{\cdot-}$)、羟基 (-OH)、过氧化氢 (H_2O_2)、单态氧 (1O_2) 等非常活跃的小分子, 这些小分子能够和大量细胞成份反应, 氧化各种大分子, 比如核酸、蛋白质、糖类和脂肪, 引起植物细胞内氧化应激反应, 过剧烈的反应可能导致细胞死亡 (Gadjev 等, 2008)。为了抵抗这些氧化应激反应, 植物细胞通过建立全面的抗氧化系统来清除过量的 ROS, 达到解毒的目的, 这个过程主要由抗氧化酶参与, 比如超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) (Matilla-Vazquez 和 Matilla, 2012)。在对重金属敏感的植物中, 如果没有充足的抗氧化酶存在, ROS 水平会急速升高, 由 ROS 诱导的细胞内损伤会引起细胞程序性死亡, 影响植物的生长发育。

重金属忍耐物种通常能产生大量可清除 ROS 的抗氧化酶, 提供充足、有效的抗氧化防御机制来抵抗重金属诱导的氧化应激反应。镉诱导的抗氧化机制主要通过提高抗氧化酶的含量和增强抗氧化酶的活性来实现, 例如, 镉胁迫下, 在镉超

富集物种中, CAT 和 SOD 抗氧化酶含量的提高和活性的增强, 会引起 ROS 含量的减少和镉解毒能力的增强。

由镉胁迫诱导的 ROS 反应机制会通过不同的防御途径来消除活性氧基团。比如, 镉超富集物种圆锥南芥 (*Arabidopsis paniculata*) 通过提高参与能量代谢和蛋白代谢的蛋白表达, 来适应镉胁迫, 纠正错误折叠的蛋白, 加速植物生长; 同时也能够促进植物体抗氧化防御能力和细胞代谢能力, 维持细胞内氧化还原反应的平衡 (Zeng 等, 2011)。类似地, 在镉胁迫下, 遏蓝菜 (*N. Caerulescens*) 具有较高的 APX 活性和较低的 SOD 活性 (Woźcik 等, 2006)。

3 非必需重金属吸收和排出蛋白

3.1 生物体内可能参与非必需重金属吸收的蛋白

目前已有报道指出, 硅藻体内的碳酸脱水酶的催化作用需要镉的参与 (Li 等, 2007), 然而有毒的非必需重金属, 比如镉和铅等被认为没有生物学功能。很多研究报道表明, 植物在缺乏必需金属的条件下, 非必需重金属 Pb、Hg 和 Cd 等能够通过某一种或几种阳离子转运载体蛋白运输至植物体内, 这是因为非必需金属元素和必需金属元素之间存在竞争吸收。一些报道表明, 转运必需重金属的载体蛋白 *AtNRAMP4*、*ZNT1*、*IRT1*、*AtNRAMP3*、*AtNRAMP1* 等也可以转运重金属镉。水稻 (*Oryza sativa*) 中 *OsIRT1* 和 *OsIRT2* 能够转运二价铁离子, 但同时对镉也有高亲和力, 过量表达的 *OsIRT1* 和 *OsIRT2* 基因也将大幅提高水稻对镉的转运效率 (Li 等, 2007; Martinez 和 Motto, 2000)。存在于酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 和小麦 (*Triticum aestivum*) 中的 LCT1, 是一类阳离子转运蛋白, 亲和力较低, 主要参与调控小麦植株体内钾离子、钠离子和钙离子的有序动态平衡。然而, 该基因的表达也能增强烟草、酵母对镉的大量吸收 (Broadley 等, 2007; Wagner 等, 2009)。最早在烟草中发现的钙调素结合蛋白—*NtCBP4*, 通过结构分析发现它是一类非特异性的阳离子通道蛋白。过量表达 *NtCBP4* 的植株对重金属 Ni 离子的忍耐力比野生型植株强很多, 其植株体内 Ni^{2+} 的积累量也很少。然而, 该植株对 Pb^{2+} 特别敏感, 研究发现植株体内 Pb^{2+} 的积累量较高 (Deinlein 等, 2012)。Sunkar 等 (2000) 研究了用转 *NtCBP4ΔC* (C 端 CaMBD 结构域被除掉和环核苷酸结合的 *NtCBP4* 基因) 基因的烟草发现, 通过与转全长 *NtCBP4* 基因的植物相比较后, 转基因 *NtCBP4ΔC* 的植株对 Pb^{2+} 耐受性得到很大提高, 而且 Pb^{2+} 的积累量也减少。上述研究表明 *NtCBP4* 很可能是 Pb^{2+} 进入植物体的载体。研究以遏蓝菜 (*Thalassia arvensis*) 的 2 种生态型 *Ganges* 和 *Prayon*

为试验材料,在缺乏铁的条件下,观察镉的积累情况,从生态型 *Ganges* 中成功克隆到2种参与重金属转运的蛋白,分别是 TcIRT-G 和 TcIRT1-G (Lombi 等,2002)。后续的深入研究证明了 TcIRT1-G 基因的上调表达受到镉的诱导 (Wagner 等,2009),说明 TcIRT1-G 既能转运 Cd,又能转运 Fe。

3.2 参与非必需重金属排出的蛋白

非必需重金属转运蛋白包括重金属排出蛋白,该类蛋白的功能是将重金属转运出细胞质或者将重金属转运进入植物体内的细胞器,主要包含 P_{1B} 型 ATP 酶、阳离子转运促进蛋白家族 (CDF) 和三磷酸结合盒转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter) 3大蛋白家族。该类蛋白在排除重金属至非原质体、重金属细胞区室化等解毒过程中起着重要作用 (Green 和 Paget,2004)。

3.2.1 CDF 蛋白家族

CDF 家族的转运蛋白主要功能是将过量的 Zn²⁺ 进行区室化隔离,也能将过量的 Zn²⁺ 转运出植物细胞,从而降低 Zn²⁺ 对植物细胞的危害。在拟南芥中发现的首个 CDF 家族转运蛋白是 MTP1,其主要功能是转运细胞内过量的 Zn²⁺、Cd²⁺。在镉胁迫条件下,车前草中 MTP1 会过量表达。Kobae 等 (2004) 使用绿色荧光蛋白 (GFP) 标记技术研究 *AtMTP1* 基因在植物细胞内的瞬时表达,发现 *AtMTP1* 基因位于根部表皮细胞和叶片组织的叶肉的液泡膜上,因此该基因的主要功能是将 Zn²⁺ 转运至液泡。该研究还证实了 *AtMTP1* 突变体的某些器官内锌含量比野生型少很多,表明 *AtMTP1* 的大量表达影响植物不同器官之间锌的分配。对 Cd/Zn 超富集植物—圆叶南芥的研究表明,在镉胁迫条件下,其植株体内的锌含量比其它非超富集植物高出约80倍,并且该植株还能正常生长。利用 DNA 微阵列技术发现圆叶南芥的叶片中 MTP1 的过表达,由此说明 *AtMTP1* 基因能缓和植株体内大量的重金属的累积。

3.2.2 HMA 家族

ATP 酶 (HMA) 属于 P_{1B} 型 ATP 酶,包含多个家族成员。HMA 是一类通过使 ATP 水解,利用其释放的能量来实现重金属离子跨膜转运的蛋白质,在锌、镉、钴和铅等离子的跨膜转运中起着非常重要的作用。通过比对,发现人、细菌以及植物的 HMA 氨基酸序列之间具有较高的同源性。然而拟南芥中存在8种 HMA。HMA1、HMA2、HMA3、HMA4 是二价阳离子的载体,参与铅离子、铜离子以及镉离子的转运;HMA5、HMA6、HMA7、HMA8 是一价阳离子的运载体,比如银离子、亚铜离子等。根据目前的报道,HMA 家族的蛋白质主要参与细

胞内金属离子的区室化和转运 (Seigneurin 等,2006)。在重金属胁迫下,HMA4 大量被表达,说明 HMA 可以转运铅、镉以及锌。还有一些研究发现 HMA4 和 HMA2 在植物体导管部位被大量表达,这可能说明它们参与木质部中重金属离子的装卸 (Seigneurin 等,2006)。

3.2.3 三磷酸结合盒转运蛋白 (ABCC 转运蛋白)

利用水解 ATP 释放的能量,ABCC 转运蛋白能主动转运多种重金属透过细胞生物膜。ABCC 载体一般包含4~6个跨膜疏水区域、核苷酸结合区域和 ATP 结合区域。根据目前的研究,在拟南芥基因组中,含有125个参与编码 ABCC 转运蛋白的基因,尚有大量基因未被发现。已有的研究都表明,ABCC 转运蛋白和植物抗逆、解毒重金属有关联 (Gaillard 等,2008)。目前研究得较多的是 MRP 和 PDR,这两个基因是参与重金属解毒的三磷酸结合盒转运蛋白亚族。*AtMRP3* 能装载 GS-Cd 复合物;拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中 *AtMRP3* 基因表达伴随着镉浓度的升高而上调,由此推断该蛋白是一种参与重金属解毒的蛋白。从水稻分离到的 *OsPDR9* 基因,其表达受 NiCl₂ 及 CoCl₂ 诱导。过量表达的 *AtPDR8* 基因能增强植物对铅和镉的忍耐性,通过比较野生型植株和转基因植株排出的镉的含量发现,野生型植株体内含有镉离子较多,由此推测 *AtPDR8* 有提高重金属 (Cd²⁺ 及 Pb²⁺) 忍耐性的功能,具有将重金属排出细胞的作用。

4 结论与展望

植物抗镉胁迫的机理研究虽然已取得了阶段性的进展,但并不完整,尚有较多不明朗之处,归纳如下:(1)目前尚无植物体内特异转运重金属镉的蛋白的相关报道;(2) GSH 合成酶基因的表达与镉的抗逆关系及镉处理下拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 GSH/GSSG 比例下降与 GR 和 APX 活性增强的代谢机制还需进一步探讨;(3) *AtPDR8* 在提高重金属 (Cd²⁺ 及 Pb²⁺) 忍耐性的功能方面的验证性研究;(4)在重金属超富集植物中,MTs 作为 ROS 清除剂的确切作用尚不明确,有望从分子水平上对镉毒害机理作进一步分析。

土壤重金属污染越来越严重,国内外对其修复治理也越来越关注。除了一般的物理化学修复,近年来,生物修复备受瞩目,而植物修复即属于生物修复的一种方式。植物修复是指利用自然生长的植物或培育植物及其根系微生物群落对土壤、水体中的污染物进行清除,是一种绿色修复技术。其优点是成本低,可以原位实施,减小对土壤性质的破坏和对周围生态环境的影响,适合大规模的示范和应用等。本文研究了重金属镉超耐受物种的生物化学

及分子生理机制，对抗性植株的筛选和更好地利用植物修复技术来治理重金属污染具有重大意义；另外，也可考虑应用基因工程技术将抗性基因或决定超富集的基因导入理想植物体内，进行基因重组和表达，从而提高植物吸附和超富集重金属的修复效率，有效治理环境污染，造福人类。以植物抗镉分子机理为理论基础的基因工程技术产生的高效率超富集植物修复技术，将重新引领环境修复行业向着高效、生态、可持续方向展开新一轮发展。

参考文献：

- APPENROTH K J. 2010. Definition of "heavy metals" and their role in biological systems [J]. *Soil Heavy Metals*, 64(7): 19-29.
- BARCELO J, POSCHENRIEDER C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress : A review [J]. *Plant Nutrition*, 13(1): 1-39.
- BAXTER I, HOSMANI PS, RUS A, et al. 2009. Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in *Arabidopsis* [J]. *PLoS Genetics*, 5(5): e1000492.
- BENES I, SCHREIBER K, RIPPERGER H, et al. 1983. Metal complex formation by nicotianamine, a possible phytosiderophore [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 39(3): 261-262.
- BROADLEY M R, WHITE P J, HAMMOND J P, et al. 2007. Zinc in plants [J]. *New Phytol*, 173(4): 677-702.
- CAI Y, CAO F, CHENG W, et al. 2011. Modulation of exogenous glutathione in phytochelatins and photosynthetic performance against Cd stress in the two rice genotypes differing in Cd tolerance [J]. *Biological Trace Element Research*, 143(2): 1159-1173.
- COBBETT C S. 2000. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification [J]. *Plant Physiology*, 123(3): 825-832.
- COURBOT M, DIEZ L, RUOTOLO R, et al. 2004. Cadmium-responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12): 7413-7417.
- CURIE C, CASSIN G, COUCH D, et al. 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters [J]. *Annals of Botany*, 103(1): 1-11.
- DAS P, SAMANTARAY S, ROUT G. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review [J]. *Environmental Pollution*, 98(1): 29-36.
- DEINLEIN U, WEBER M, SCHMIDT H, et al. 2012. Elevated nicotianamine levels in *Arabidopsis halleri* roots play a key role in zinc hyperaccumulation [J]. *Plant Cell*, 24(2): 708-723.
- GADD G M. 2010. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation [J]. *Microbiology*, 156(3): 609-643.
- GADJEV I, STONE J M, GECHEV T S. 2008. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide [J]. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 270: 87-144.
- GAILLARD S, JACQUET H, VAVASSEUR A. 2008. AtMRP6/AtABC6, an ATP-binding cassette transporter gene expressed during early steps of seedling development and up-regulated by cadmium in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMA Plant Biology*, 8: 1-11.
- GREEN J, PAGET M S. 2004. Bacterial redox sensors [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2(12): 954-966.
- GUO W J, MEETAM M, GOLDSBROUGH P B. 2008. Examining the specific contributions of individual *Arabidopsis* metallothioneins to copper distribution and metal tolerance [J]. *Plant Physiology*, 146(4): 1697-1706.
- HANSCH R, MENDEL R R. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3): 259-266.
- JENTSCHKE G, GODBOLD D. 2000. Metal toxicity and ectomycorrhizas [J]. *Physiologia Plantarum*, 109(2): 107-116.
- JOZEF CZAK M, REMANS T, VANGRONSVELD J, et al. 2012. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3): 3145-3175.
- KESSLER A, BRAND M D. 1995. The mechanism of the stimulation of state 4 respiration by cadmium in potato tuber (*Solanum tuberosum*) mitochondria [J]. *Plant Physiol. Biochem.* 33: 519-528.
- KOBAE Y, UEMURA T, SATO M H. 2004. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis [J]. *Plant and Cell Physiology*, 45: 1749-1758.
- KORSHUNOVA Y O, EIDE D, GREGG C W, et al. 1999. The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range [J]. *Plant Molecular Biology*, 40(1): 37-44.
- KRZESOWSKA M. 2011. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy [J]. *Acta Physiologica Plantarum*, 33(1): 35-51.
- KUPPER H, LOMBI E, ZHAO F J, et al. 2000. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. *Planta*, 212(1): 75-84.
- LI T, YANG X, MENG F, LU L. 2007. Zinc adsorption and desorption characteristics in root cell wall involving zinc hyperaccumulation in *Sedum alfredii* Hance [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 8(2): 111-115.
- LOMBI E, TEARALL K L, HOWARTH J R, et al. 2002. Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Physiology*, 128(4): 1359-1367.
- LOMBI E, TEARALL K L, HOWARTH J R, et al. 2002. Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Physiology*, 128: 1359-1367.
- LOMBI E, ZHAO F, MCGRATH S, et al. 2001. Physiological evidence for a high-affinity cadmium transporter highly expressed in a *Thlaspi caerulescens* ecotype [J]. *New Phytologist*, 149(1): 53-60.
- MARTINEZ C, MOTTO H. 2000. Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils [J]. *Environmental Pollution*, 107(1): 153-158.
- MATILLA-VAZQUEZ M, MATILLA A. 2012. Role of H₂O₂ as signaling molecule in plants. In: *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*, Springer, New York, 361-380.
- MILLS R F, KRIJGER G C, BACCARINI P J, et al. 2003. Functional expression of AtHMA4, a PIB-type ATPase of the Zn/Co/Cd/Pb subclass [J]. *Plant Journal*, 35(2): 164-176.
- PENCE N S, LARSEN P B, EBBS S D, et al. 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(9): 49-56.
- PLAZA S, TEARALL K L, ZHAO F J, et al. 2007. Expression and functional analysis of metal transporter genes in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 58(7): 1717-1728.
- ROOSENS N H, LEPLAE R, BERNARD C, et al. 2005. Variations in plant metallothioneins: the heavy metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as a study case [J]. *Planta*, 222(4): 716-729.
- SEIGNEURIN D, GRAVOT A, AUROY P. 2006. HMA1, a new

- Cu-ATPase of the chloroplast envelope, is essential for growth under adverse light conditions[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 281:2882-2892.
- SEMANE B, CUYPERS A, SMEETS K, et al. 2007. Cadmium responses in *Arabidopsis thaliana*: glutathione metabolism and antioxidative defense system[J]. *Physiologia Plantarum*, 129(3): 519-528.
- SETH CS, REMANS T, KEUNEN E, et al. 2012. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione [J]. *Plant Cell Environment*, 35(2): 334-346.
- SIEDLECKA A, KRUPA Z. 1996. Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 34(6): 833-841.
- SUNKAR R, KAPLAN B, BOUCHE N. 2000. Expression of a truncated tobacco NtCBP4 channel in transgenic plants and disruption of the homologous *Arabidopsis* CNGC1 gene confer Pb^{2+} tolerance[J]. *The Plant Journal*, 24: 533-542.
- TIAN S, LU L, YANG X, et al. 2011. Root adaptations to cadmium-induced oxidative stress contribute to Cd tolerance in the hyperaccumulator *Sedum alfredii*[J]. *Biologia Plantarum*, 56(2): 344-350.
- TRAMPCZYNSKA A, KUPPER H, MEYER-KLAUCKE W, et al. 2010. Nicotianamine forms complexes with Zn (II) in vivo[J]. *Metallomics*, 2(1): 57-66.
- UENO D, KOYAMA E, KONO I, et al. 2009. Identification of a novel major quantitative trait locus controlling distribution of Cd between roots and shoots in rice [J]. *Plant Cell Physiology*, 50(12): 2223-2233.
- UENO D, YAMAJI N, KONO I, et al. 2010. Gene limiting cadmium accumulation in rice [J]. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 107(38): 16500-16505.
- VAN De, MORTEL J E, SCHAT H, et al. 2008. Expression differences for genes involved in lignin, glutathione and sulphate metabolism in response to cadmium in *Arabidopsis thaliana* and the related Zn/Cd-hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Cell Environment*, 31(3): 301-324.
- WAGNER A, DONALDSON L, KIM H, et al. 2009. Suppression of 4-coumarate-CoA ligase in the coniferous gymnosperm *Pinus radiata*[J]. *Plant Physiology*, 149(1): 370-383.
- WOJCİK M, SKO'RZYN'SKA-POLIT E. 2006. Tukiendorf A. Organic acids accumulation and antioxidant enzyme activities in *Thlaspi caerulescens* under Zn and Cd stress [J]. *Plant Growth Regulation*, 48(2): 145-45.
- WOJCİK M, TUKIENDORF A. 2011. Glutathione in adaptation of *Arabidopsis thaliana* to cadmium stress [J]. *Biologia Plantarum*, 55(1): 125-132.
- ZENG X W, QIU R L, YING R R, et al. 2011. The differentially-expressed proteome in Zn/Cd hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch in response to Zn and Cd[J]. *Chemosphere*, 82(3): 321-328.
- 陈圣安. 2011. 镉污染对水稻生理生化的影响[J]. *农技服务*, 28(7): 1033-1035.
- 丁小余, 施国新, 常福辰, 等. 1998. Cd 污染对莼菜叶片形态学伤害反应的研究[J]. *西北植物学报*, 18(3): 417-442.
- 何兰兰, 角媛梅, 王李鸿, 等. 2009. Pb、Zn、Cu、Cd 的超富集植物研究进展[J]. *环境科学与技术*, 32(11): 120-123.
- 李开军. 2011. 常见重金属土壤污染及植物修复研究进展[J]. *绿色科技*, (12): 132-134.
- 李梦梅, 龙明华. 2005. 植物抗镉胁迫的研究综述[J]. *广西农业科学*, 36(4): 319-322.
- 刘东华, 蒋悟生, 李懋学. 1992. 镉对洋葱根生长和细胞分裂的影响[J]. *环境科学学报*, 12(4): 439 - 446.
- 刘厚田, 张维平, 于亚平, 等. 1986. 土壤镉污染对水稻叶片光谱反射特性的影响[J]. *生态学报*, 6(2): 89-99.
- 彭鸣, 王焕校, 吴玉树, 等. 1991. 镉铅诱导的玉米幼苗细胞超微结构的变化[J]. *中国环境科学*, 11(6): 426-431.
- 王永锐, 周建华, 等. 1997. 硅营养对缓解水稻幼苗 Cd、Cr 毒害的生理研究[J]. *应用环境生物学报*, 1(5): 11-16.

Research progress of plants resistance to heavy metal Cd in soil

XUE Yong¹, WANG Yuanyuan¹, YAO Quanhong¹, SONG Ke², ZHENG Xianqing², YANG Jianjun^{2*}

1. Biotech Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China;

2. Institute of Eco-Environment and Plant Protection, Shanghai 201403, China

Abstract: In recent years, human activities, such as mining, industrial activities, caused the serious pollution of the heavy metal cadmium in soil. It's harmful to plants and human beings. This study describes the physiological mechanisms and inhibition performances when plants are facing the heavy metal stress such as cadmium stress, and we analyze plant adaptive strategies under the heavy metal stress from the cellular and molecular aspects. Heavy metal element, cadmium, is not essential for plants. The process that plants transport and detoxify cadmium is precision, which is a very complex mechanism. Heavy metal transporters play a key role in the regulatory process involved in absorption, chelation, compartmentalization and metabolic utilization. Non-essential heavy metal transporter protein contains two types, absorption protein and transpiration protein. Absorption protein include *AtNRAMP*, *ZNT* and *OsIRT* etc. It can transport heavy metal into plant by one or several cationic transporter protein. Transpiration protein contain HMA family, CDF family, ABC transporter protein, whose main function is to discharge heavy metals in the cytoplasmic matrix, or transported cadmium to the vacuole and other organelles. Heavy metal transporter protein plays a very active defensive role in plant tolerance when plants facing heavy metal stress. It mainly discussed the study of plant cadmium resistance, and provided theoretical basis and application guide for plant remediation of heavy metal in this paper.

Key words: cadmium; heavy metal; phytoremediation; soil pollution