

重金属及有机物污染土壤的植物修复机制

张 胜¹, 胡炳义², 陈 龙^{2*}

(1. 漯河职业技术学院, 河南 漯河 462000; 2. 周口师范学院生命科学系, 河南 周口 466000)

摘要: 环境污染是当今世界面临的一个严峻问题, 植物修复是利用植物修复环境污染物的方法, 它以安全、经济、高效等特点而受世人瞩目。文中就土壤重金属污染的植物积累、固化、挥发的修复机制和植物消除有机污染物的直接吸收、根系分泌物以及微生物的降解作用机制作了系统阐述, 并介绍了转基因植物修复的研究进展情况。

关键词: 土壤污染; 植物修复; 机制; 转基因植物

中图分类号: Q948.116 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2006)07-0010-05

The Mechanism of Phytoremediation of Soil Contaminated by Heavy Metals and Organic Pollutants

ZHANG Sheng¹, HU Bing-yi², CHEN Long^{2*}

(1. Luohe Vocational and Technical College, Luohe 462000, China;

2. Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466000, China)

Abstract: Environmental pollution with metals and organic pollutants is a global problem, and the development of phytoremediation technologies with safe, efficient and economic characters is therefore of significant interest. The mechanisms of accumulation, stabilization and volatilization of plants for heavy metals, and the uptake, degradation of organic contaminants via plant root secretion and microorganisms were reviewed comprehensively. The progress of transgenic plants for phytoremediation of contaminated soils was introduced.

Key words: Soil contamination; Phytoremediation; Mechanism; Transgenic plant

随着世界经济的持续发展, 人口的快速增长和人类生活水平的不断提高, 环境污染物的排放量与日俱增, 环境污染和生态破坏给土壤带来了严重的污染, 进入土壤环境中的有毒有害物质日益增多, 土壤作为人类赖以生存的自然环境, 已显露出不堪重负的迹象。采矿业、工业和农业也不断向生态系统中排放有毒有害物质, 引起严重的环境问题^[1]。重金属和废弃有机物是土壤主要的污染物, 它可使土壤肥力退化、降低作物产量与品质, 并通过食物链最终进入人体, 对人类的健康造成严重的威胁。因

此, 对污染土壤进行修复已引起学术界的广泛关注。1983 年, 美国科学家 Chaney^[2] 首次提出了利用能够富集重金属的植物来清除土壤重金属污染的设想, 即植物修复技术, 它与传统方法相比, 具有高效、经济、安全和生态协调性好等优点。植物修复是一种利用植物修复受有毒金属、有机物和放射性物质污染的土壤、沉积物、地表水和地下水的绿色技术^[3]。目前, 植物修复的生理与分子机制研究成果、生物工程学的研究策略推动着植物修复技术的发展, 有关植物修复机制的研究倍受学者们的青睐。

收稿日期: 2006-03-11

基金项目: 河南省教育厅自然科学研究项目(2006180023)

作者简介: 张 胜(1962-), 男, 河南驻马店人, 副教授, 硕士, 主要从事植物学研究。

通讯作者: 陈 龙(1962-), 男, 河南淮阳人, 教授, 本科, 主要从事植物生理生化研究。

1 重金属污染土壤的植物修复机理

地壳中以不同水平存在着多种金属, 细胞在生长发育过程中也需要这些金属, 然而高浓度的金属对其产生毒性^[4]。按其作用过程和机理, 重金属污染土壤的植物修复可分为植物积累(提取)、植物挥发、植物固化等几种方式。

金属超级积累植物指比其他植物积累高出 100 倍以上的种类, 如积累占干物质量 10g/kg 的 Mn 和 Zn, 1g/kg 的 Cu 和 Ni, 0.1/kg 的 Cd^[5]。已发现的具有超级积累特性的植物有 70 个属 500 多种^[6]。这类植物根细胞膜中的金属水平很高, 主要是原生质膜中金属转运子(Transporter)基因超强的表达, 对金属的超级吸收也因分泌金属螯合物(如组氨酸)或可以转化不易分解金属的根际微生物而致^[7]。

植物挥发指通过植物的吸收促进一些重金属转变为挥发态, 挥发在土壤和植物表面。Se、As 和 Hg 等元素可通过甲基化挥发, 大大减轻了土壤的重金属污染程度。如烟草能使毒性大的二价汞转化为气态的汞^[8], 洋麻可以使土壤的 47% 的三价砷转化为甲基砷挥发而被去除^[9]。植物固化指利用植物根际的一些特殊物质, 使土壤中污染物转化为相对无害的物质, 再由耐重金属植物或超积累植物降低重金属的活性, 从而减少金属被淋滤到地下水或通过空气扩散进一步污染环境的可能性。该过程并未使土壤重金属的含量减少, 只是暂时将其固定, 包括分解、螯合、氧化还原等多种反应。它保护污染土壤不受侵蚀, 减少土壤渗漏来防止金属污染物的淋移, 还通过金属根部的积累和沉淀或根表吸附来加强土壤中污染物的固定。如植物能使六价铬变为三价铬^[10], 而使其固化。

被植物吸收的金属离子必须是生物有效的, 植物已逐步演化形成使微量金属元素有效的机制, 如分泌有机酸(苹果酸、柠檬酸), 作为金属的螯合物降低根际 pH 或通过根细胞膜的质子泵影响根际 pH, 使金属阳离子更加有效^[11]。植物含铁细胞束缚金属 Fe, 有利于其吸收。根际微生物也影响植物对金属的吸收, 如细菌可提高植物对 Se 和 Hg 的吸收, 菌根可降低植物对金属吸收^[11, 12]。

金属的吸收需要根细胞膜上的转运子进入共质体, 该过程有专一性的膜传导蛋白参与。转运子一般存在于膜内部, 调节细胞器中的金属储藏, 膜作为

独立的腔室在转运子帮助下调节金属浓度^[7]。原生质膜上的质子梯度驱动金属离子吸收进入细胞^[13]。金属转运子将根系的金属离子输出, 进入木质部非共质体, 蒸腾流驱动其在木质部中的运转^[14]。不同螯合物也参与金属通过木质部的运转, 如有机酸的螯合物。金属离子由木质部非共质体进入茎的共质体是由茎细胞膜上的转运子调节的。金属离子进入茎细胞后, 必需的金属将被转运至最终地点, 由膜金属转运子和束缚金属蛋白质共同参与此过程。

必需和非必需金属储存在对关键细胞过程危害极小的位置, 隔离作用也可在非共质体中或转化细胞中。储存在液泡的某些金属可为植物螯合剂(Phytochelatins, PC)所络合, 植物螯合剂是发生在所有植物、某些真菌和动物中, 含有 523 个氨基酸且富含半胱氨酸的束缚金属肽类, 只在金属(如 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ag^{+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 等)胁迫下被诱导, 通过谷胱甘肽的酶反应合成, 在有害金属耐性中发挥作用, 它能与营养元素和有毒金属形成配合物, 促进这些元素向液泡中运输。在隔离作用中起作用的主要是金属螯合分子。金属硫蛋白(Metallothionein, MT)是一类由基因编码的低分子量($< 7\text{kDa}$)的富含半胱氨酸的多肽, 可通过半胱氨酸残基上的巯基与重金属结合形成无毒或低毒配合物, 从而清除重金属毒害作用^[15]。金属结合蛋白具有金属特异性, 如只隔离毒性金属(如 Cd、Hg 和 Pb 等), 而不隔离重要的微量元素(如 Zn)。此外, 在植物细胞内还可形成肌醇六磷酸锌, 碳酸脂铅盐和硅酸脂铅盐, 这些螯合物的形成可能在这类重金属的解毒机制中起作用。

2 有机物污染土壤的植物修复机理

按照作用过程和机理, 有机物污染土壤的植物修复可分为直接植物修复和体外植物修复 2 种类型。有机物污染的直接植物修复类似于重金属污染的植物修复, 通过植物对污染物的直接吸收来修复污染土壤。体外植物修复是植物分泌物进入土壤多种酶中从而降解有机污染物; 二是植物根系的多种分泌物, 为根际丰富的微生物多样性提供了必要条件, 从而对污染物发挥降解作用^[16, 17]。

抑制是植物减少或消除污染物对其他生物区系的生物有效性, 污染物并不一定被降解。抑制的主

要机制是植物体对污染物的积累、污染物在根系表面的吸附, 还有以植物作为有机泵分离根区污染物, 而防止污染物外延。后者主要指植物呼吸掉大量水分, 逆转水溶性化合物的移动。

植物对进入体内的有毒污染物主要通过氧化作用、水解作用和轭合作用等而解毒。氧化和水解反应一般是将有毒有机污染物进行解毒, 或者使有机污染物的分子易于发生轭合作用。高等植物解毒的主要反应为氧化作用, 主要有: N-脱羟作用、芳香族羟基化作用、环氧化作用、硫氧化作用等。水解作用主要是由水解酶催化, 羧酸酯类有机物在植物中可水解呈现游离酸的形式, 如 2, 4-D 形成的酯类进入植物体后, 就被水解成游离酸的形式。轭合作用是指植物体将体内的有机污染物及其代谢产物共价轭合到植物体内的化合物上, 如糖、氨基酸、谷胱甘肽等, 从而使其植物降低或失去毒性的代谢过程。植物体的解毒机制是相互联系的。此外, 还可能还有还原作用、异构化作用等解毒机制^[18]。

根际是受植物根系影响的根与土界面的一个微域, 也是植物、土壤、微生物与其环境条件相互作用的场所^[19]。这里聚集了大量的根系分泌物, 它们有高分子量的分泌物(主要是粘胶、胞外酶等)和低分子量分泌物(主要是低分子有机酸、糖、酚及各种氨基酸)。植物根系释放到土壤中的酶可直接降解某些化合物, 有时降解速度很快。植物死亡之后, 酶被释放到环境中还能继续发挥分解作用, 如硝酸还原酶和漆酶能分解炸药废物。根际微域的根系分泌物和分解产物为微生物繁殖提供了营养, 使根域附近存在大量的微生物, 从而促使根际微域中有毒有害有机物的降解。植物根际可以加速脂肪烃类、多环芳烃类和农药的降解。一些表面活性剂的矿化率在根际土壤比非根际土壤要快近 2 倍, 深根系土壤的苯并 α 蒽等比未耕种的土壤中消失得快^[20]。植物根际对化学物质的降解有很强的选择性。

3 土壤污染的转基因植物修复

3.1 重金属污染的转基因植物修复

在改造能够忍耐和积累重金属的植物时, 主要是将已知参与哺乳动物解毒作用的 MT 导入到植物中。表达 MT 的转基因植物能够增强对 Cd^{2+} 的耐受性, 累积或改变 Cd^{2+} 的分布。研究显示, MT 表达的转基因植株对 Cd^{2+} 的耐受性提高到 200

$\mu\text{mol/LCd}^{2+}$ ^[21]。导入了植络素合成酶基因的植物, 本身能合成大量的植络素, 增强了植物的抗重金属能力^[8]。Zhu^[22] 等研究发现, *Escherichia coli* 的谷氨酰半胱氨酸合成酶基因(*gsh I*)和谷胱甘肽合成酶基因(*gsh II*)融合体过量表达的印度芥菜(*Brassica juncea*)转基因植株, 比对照积累更多的 Cd^{2+} 。

细菌能够还原重金属, 降低其毒性。从 Gram 阴性细菌中分离出来的包括 56 个被操纵子编码的泵离子还原酶基因(*merA*)可将毒性较强的 Hg^{2+} 转变为毒性低的金属 Hg^0 , 从植物中挥发而增强对汞的抗性^[23]。用基因(*merA18*)修饰的转基因北美鹅掌楸(*Liriodendron tulipifera*)的 Hg^0 含量是对照的 10 倍^[24]。*merA* 转基因杨树比对照中 Hg^0 含量高 10 倍^[25]。导入 *merA* 的拟南芥菜籽粒, 其幼苗中 Hg^0 含量是对照的 2~3 倍, 对 Au^{3+} 也产生较强抗性。导入了有机汞裂解酶基因(*merB*)的拟南芥菜能将甲基汞和其他形式的有机汞转化为无机汞, 使汞的毒性明显降低^[24]。

导入多种目标基因, 获得具有修复多种重金属复合污染土壤能力的植物, 是植物修复技术的重要发展方向, 筛选和鉴定目标基因是这一技术的关键环节。铁螯合还原酶基因(*FRE*)有 2 种形式, 即 *FRE1* 和 *FRE2*, 分别将其导入到烟草中, 结果发现, 导入了 *FRE2* 和 *FRE1+FRE2* 的植株比对照和导入了 *FRE1* 的植株对 Fe 的耐性更强, 幼苗叶中, Fe^{3+} 的含量也得以提高, 同时使得拟南芥菜中 Mn 的含量提高了 8 倍^[26]。结果说明, 在适当启动子的作用下, 该体制可用于生产修复重金属复合污染土壤的植物。

3.2 有机物污染的转基因植物修复

研究证实, 转基因杂交杨树可以吸收和代谢硝基苯环类化合物(TEC)^[27]。P450_{2E1} 是一种具有超强氧化能力的哺乳动物细胞色素, 它能氧化包括 TEC、二溴化乙烯(EDB)、苯、苯乙烯、氯仿等多种化合物。试验证实, 将人类 P450_{2E1} 导入西红柿能大大提高其对 TEC 和 EDB 的代谢能力^[28]。

硝基苯环类化合物具有强毒性和致癌作用且不易被矿化。转基因植株能够耐受硝酸甘油(GNT)和 2, 4, 6-三硝基甲苯(TNT)的浓度比野生型植株高 10 倍。French 等^[29] 通过导入季戊四醇四硝酸脂还原酶基因, 培育出了能够降解硝酸脂和硝基苯环

类化合物的转基因植物。野生的烟草在 0.025 mmol/L TNT 中可被致死, 而转基因的烟草在含有 0.05 mmol/L 的 TNT 的环境中却能正常生长。基因改良的烟草能够对 TNT 除氮, 生成二硝基和一硝基芳香化合物。已证实多种细菌基因能增强降解多氯联苯类化合物(PCBs)的能力^[27]。Greg 等人已经弄清了阻碍 PCBs 在自然环境中被微生物降解的关键步骤, 通过改造将相关基因导入土壤微生物可以增强微生物降解 PCBs 的能力^[30]。

4 问题与展望

随着对植物修复机制的深入研究, 这项技术已逐步走向了实用化。将来植物修复技术的重要进展, 主要取决于对新的可更好地抵抗重金属或降解有机毒物的基因的鉴定和克隆, 并通过转基因技术创造一批新的植物品种, 如能快速大量积累重金属或转化有机物的高生物量的可用作环境净化的植物, 以及可排拒重金属吸收的粮食、蔬菜和水果等作物。应用基因调控表达的方法, 人们可针对不同用途的植物采取相应的策略。大多数超积累植物常常是积累单一重金属, 土壤的污染则常是多种重金属的复合污染。研究超积累植物的抗性机理, 筛选出能同时吸收几种重金属污染物的植物, 将基因工程技术结合到植物修复技术中, 培育出高效富集多种重金属的转基因植物^[31, 32]。土壤微生物活性及其理化特性, 也影响植物的修复进程。从基因水平上研究植物根际微域微生物多样性, 如应用(随机扩增多态性)分子生物学检测技术等来准确发现降解特定有机污染物的微生物。当植物根系在遇到有毒有害有机污染物时, 先产生一种化感物质, 该物质可诱导植物分泌出特定的分泌物。通过研究植物根系分泌特定分泌物的机理及其影响因素, 对控制植物分泌特定分泌物的基因定位、克隆, 以创造高效生物修复植物^[33~35]。

植物修复不仅是一条绿色的净化途径, 而且也是一种经济有效的、符合大众需求的净化环境的新技术。它能回收金属而被再利用, 又能保持土壤结构和微生物活性, 故是一种节约型的原位绿色技术。但是, 该技术的应用仍有一定局限性, 一般认为植物修复技术在污染量较低和中等地块或污染处于相对浅表层的区域最为有效^[36]。转基因植物在植物修复技术中的应用将会引起社会上的争议。农业生

物技术也被看作外来物种的污染技术, 认为种植非本土植物种类会出现过多的与本土植被的竞争, 种植的植物种类有扩散的潜在可能性, 从而改变现存的生态系统。

参考文献:

- [1] Ross S M. Toxic metals in soil-plant systems[M]. Chichester U K: Wiley, 1994. 52—68.
- [2] Chaney R L, Minnie M, Li Y M, *et al.* Phytoremediation of soil metals[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 1997, 8: 279—284.
- [3] Harvey P J, Campella B F, Castro P M L, *et al.* Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2002, 9(1): 29—47.
- [4] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants[M]. London: Academic Press, 1995. 5—18.
- [5] Raskin I, Kumar P B A N, Dushenkov S, *et al.* Bioconcentration of heavy metals by plants[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 1994, 5: 285—290.
- [6] Baker A J M, McGrath S P, Reeves R D, *et al.* Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils[A]. In: *Phytoremediation of contaminated soil and water*[C]. Florida: Aidianno, 2000. 85—108.
- [7] Nelson N. Metal ion transporters and homeostasis[J]. *EMBO J*, 1999, 18: 4361—4371.
- [8] Meagher R B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants[J]. *Current Opinion in Plant Biotechnology*, 2000, 3(2): 153—162.
- [9] Banuelos G S, Ajwa H A, Mackey B, *et al.* Evaluation of different plant species used for phytoremediation of high soilselenium[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1997, 26(3): 639—646.
- [10] Salt D E, Blaylock M, Kumar P B A N, *et al.* Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants[J]. *Bio/Technology*, 1995, 13: 468—474.
- [11] De Souza M P, Huang C P, Chee N, *et al.* In: *Phytoremediation of toxic metals using plants to clean up the environment*[M]. New York: Wiley, 2000. 171—190.
- [12] Rufyikiri G, Declerck S, Dufey J E, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminum toxicity in banana plants[J]. *New Phytol*, 2000, 148: 343—352.
- [13] Maser P, Thomine S, Schroeder J I, *et al.* Phyloge-

- netic relationship with in cation transporter families of Arabidopsis[J] . Plant Physiol, 2001, 126: 1646—1652.
- [14] Salt D E, Prince R C, Prichering I J, *et al.* Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard[J] . Plan Physiol, 1995, 109: 1427—1433.
- [15] Goldsbrough P. Metal tolerance in plants: The role of phytochelatin and metallothioneins[A] . In: Phytoremediation of contaminated soil and water[C] . Eds Terry N and Banuelos G. Florida: Lewis Boca Raton, 2000. 221—234.
- [16] 沈德中. 污染环境的生物修复[M] . 北京: 化学工业出版社, 2002. 317.
- [17] 张太平, 潘伟斌. 根际环境与土壤污染的植物修复研究进展[J] . 生态科学, 2003, 12(1): 76—80.
- [18] Alkorta I, Garbisu C. Phytoremediation of organic contaminants in soil[J] . Bioresource Technology, 2001, 79: 273—276.
- [19] 张福所, 曹一平. 根际动态过程与植物营养[J] . 土壤学报, 1992, 29(3): 239—250.
- [20] Aprill W, Smis R C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil[J] . Chemosphere, 1990, 28: 253—265.
- [21] Suh M C, Apicella M A, Little M, *et al.* Cadmium resistance in transgenic tobacco plants expressing the Nicotiana glutinosa L. metallothionein-like gene[J] . Mol Cells 1998, 8: 678—684.
- [22] Zhu Y L, Pilon Smits E A H, Jouanin L, *et al.* Over expression of glutathione synthetase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance[J] . Plant Physiol, 1999, 119: 73—79.
- [23] Rensing C, Kues V. Expression of bacterial mercuric ion reductase in Saccharomyces cerevisiae[J] . Journal of Bacteriology, 1992, 174: 1288—1292.
- [24] Rugh C L, Wild H D, Stack N M, *et al.* Mercuric ion reduction and resistance in transgenic Arabidopsis thaliana[J] . Proceeding of the National Academy of Science USA, 1996, 93: 3182—3187.
- [25] Rugh C L, Senecoff J F, Meagher R B, *et al.* Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation[J] . Nature Biotechnology, 1998, 16: 925—929.
- [26] Delhaize E, Randall P J, Wallace P A, *et al.* Screening Arabidopsis for mutants in mineral nutritional[J] . Plant and Soil, 1994, 156: 131—134.
- [27] Lee A, Newman, Sharon L Doty, *et al.* Phytoremediation of organic contaminants: a review of phytoremediation research at the university of Washington[J] . Journal of Soil Contamination, 1998, 7(4): 531—542.
- [28] Sharon L D, Tanya Q S, Angela M W, *et al.* Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P4502E1[J] . Proceeding of the National Academy of Science USA, 2000, 97(12): 6287—6291.
- [29] French C E, Rosser S J, Davies G J, *et al.* Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing penterythritol tetranitratereductase[J] . Nat Biotechnol, 1999, 14: 491—494.
- [30] Greg Fuhs. Bioremediation could bean option for PCBs[J] . Water Environment & Technology, 2003, 15(2): 25—31.
- [31] Wangeline A L, Burkhead J L, Hale K L, *et al.* Overpression of ATP sulfurylase in Indian mustard: effects on tolerance and accumulation of twelve metals[J] . Journal of Environmental Quality, 2004, 33(1): 54—57.
- [32] Eapen S, D Souza S F. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals[J] . Biotechnol Adv, 2005, 23(2): 97—114.
- [33] Chaudhry Q, Blom—Zandstra M, Gupta S, *et al.* Utilising the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment[J] . Environ Sci Pollut Res Int, 2005, 12(1): 34—48.
- [34] Itziar A, Javier H A, Carlos G. Plants against the global epidemic of arsenic poisoning[J] . Environment International, 2004, 30: 949—951.
- [35] Cunningham S D, Shann J R, Crowley D E, *et al.* Phytoremediation of contaminated water and soil[A] . In: Phytoremediation of soil and water contaminants[C] . Eds Kruger E L, Anderson T A and Coats J R. Washington D C: American Chemical Society, 1997. 2—17.
- [36] Oscar N R, Hussein S H, Norman T, *et al.* Phytoremediation of organo mercurial compounds via chloroplast genetic engineering[J] . Plant Physiology, 2003, 132(2): 1344—1357.