

DOI: 10.13376/j.cblls/2016065

文章编号: 1004-0374(2016)04-0504-09

# 植物响应重金属镉胁迫的耐性机理研究进展

时 萌<sup>1</sup>, 王芙蓉<sup>2</sup>, 王棚涛<sup>1\*</sup>

(1 河南大学生命科学学院, 棉花生物学国家重点实验室, 植物逆境生物学  
重点实验室, 开封 475004; 2 洛阳市孟津县中医院, 孟津 471100)

**摘要:** 重金属污染是全球面临的重大环境污染问题之一。镉是植物生长发育非必需的微量元素, 不仅影响植物生长发育, 甚至会造成植物死亡, 并且可通过在植物体内积累而威胁人类的生命健康。因此, 植物对重金属镉的吸收是环境污染研究领域的一个热点问题。现主要从重金属镉对植物生长发育的影响及植物的抗氧化系统、不同类型转运蛋白家族等方面对植物耐受镉胁迫的机理进行综述, 并对相关研究领域的一些重点问题进行了展望。

**关键词:** 植物; 重金属; 镉污染; 抗氧化系统; 转运蛋白; 耐性机理

**中图分类号:** Q945; X173

**文献标志码:** A

## Research advances in the tolerance mechanism of plant response to heavy metal cadmium stress

SHI Meng<sup>1</sup>, WANG Fu-Rong<sup>2</sup>, WANG Peng-Tao<sup>1\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Cotton Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology, College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2 Mengjin Chinese Medicine Hospital, Mengjin 471100, China)

**Abstract:** Heavy metal pollution is one of the major environmental pollution problems in the world. Cadmium is a non-essential heavy metal for plants. Soil and water pollution by cadmium is a serious environmental problem that inhibits plant growth and poses hazards to human health through the food chain. So the heavy metal cadmium uptake in plants is a hot topic in the research field of environmental pollution. In this article, we review recent progress on the tolerance mechanisms of plant response to cadmium stress, including the effects of cadmium on plant growth, plant antioxidant systems and different types of transport protein families. Some key issues in this research field are prospected in the end.

**Key words:** plant; heavy metal; cadmium pollution; antioxidant systems; transport proteins; tolerance mechanism

随着全球经济的迅速发展, 重金属对环境造成的污染问题逐步凸现, 对其治理也引起人们的重视。重金属对环境造成的污染不仅在于它不能被一般的生物所降解, 而且在生物体内还有累积的趋势。植物作为食物链中的初级生产者, 其根、茎、叶及籽粒对重金属的大量累积, 将会严重地影响植物的产量和质量<sup>[1-2]</sup>, 而且植物吸收的重金属可以经过食物链传递, 进而影响食品安全, 危及动物和人类健康<sup>[3]</sup>。因此, 近年来, 关于重金属所造成的环境污染问题的防范与治理已经成为国内外学者们研究的热点。

镉作为植物生长发育非必需的金属元素, 由于它存在着强毒性与可迁移性, 所以被植物的根系所吸收的镉元素很容易迁移至植物的籽粒中。此外, 镉在生物体内的半衰期较长且不易被降解, 因此, 镉极易通过食物链进入人体并在人体内累积, 这将会严重地危害人类肾、肝、脑、骨髓等器官的健康; 美国毒物管理委员会 (ATSDR) 将镉命名为第六位对人类健康造成危害的物质, 关于人体内镉的最大

收稿日期: 2015-10-07; 修回日期: 2016-01-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31170253)

\*通信作者: E-mail: wangpt@henu.edu.cn

允许摄入量, 世界卫生组织规定应 $\leq 1 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ <sup>[4]</sup>。

本文综述了近年来国内外有关镉对植物生长的影响, 植物对镉离子的跨膜吸收、区域化与螯合作用以及植物积累镉的分子机理, 并对该研究领域的一些重点问题进行了展望。

## 1 镉对植物生长发育的影响

镉对植物造成的毒害作用主要取决于镉在土壤中的含量, 当然也会受到某些其他因素的影响。虽然镉是一种植物生长发育的非必需元素, 但有研究表明, 植物在低浓度镉处理下的生长有略微的促进现象。何俊瑜等<sup>[5]</sup>利用水培技术对水稻镉敏感品种秀水 63 (*Oryza sativa* L. cv. Xiushui 63) 和镉耐性品种秀水 09 (*Oryza sativa* L. cv. Xiushui 09) 在 0、1、5、10、25、50、100  $\mu\text{mol}/\text{L}$  镉浓度处理下的生长情况进行研究, 结果发现, 在镉浓度  $<5 \mu\text{mol}/\text{L}$  时, 秀水 63 和秀水 09 的总根长、根表面积、根体积、根干重、根系活力并无明显影响, 在 1  $\mu\text{mol}/\text{L}$  镉处理下, 竟然还起到微弱的促进作用。小麦幼苗、豆科植物等在不同浓度镉处理下的研究也得到同样的结论<sup>[6-7]</sup>。由此可见, 利用低浓度的镉胁迫处理植物能够促进其生长, 此促进作用会因植物物种的不同而有所差异。但是, 存在此差异的原因以及低浓度镉对于植物生长发育的促进作用的机理目前尚不清楚, 当然, 这并不能够排除低浓度的镉可以加速根系中某些生理生化反应, 从而促进植物根的生长<sup>[8]</sup>。而高浓度镉胁迫下, 植物会出现茎叶黄化、叶片脱落<sup>[9]</sup>, 且植物的植株高度、叶片长度、干物质的量等随着镉浓度的不断升高而呈现明显下降的现象。

尽管高浓度镉的存在对植物造成较大的毒害作用, 但近年来发现一些植物能在高浓度镉胁迫下生长而不表现出受到毒害的表型, 目前被广泛认可的镉超富集植物有遏蓝菜、东南景天等<sup>[10]</sup>。这些超富集植物的耐镉机理主要包括: 螯合作用、抗氧化机制、将镉转运至特定的组织或器官、热激蛋白和泛素等。以上机制研究为阐明植物的耐镉能力, 揭示植物间耐镉差异的原因提供了重要的理论依据, 也为植物修复污染土壤的研究提供了理论基础。

拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 作为一种模式植物, 存在着形态结构简单、生长周期短、结果实粒多、基因组小的特点和优势, 因此, 可以借助于拟南芥这种模式植物, 筛选并克隆耐受镉毒害及调控镉积累的关键基因, 以此为材料开展一系列镉胁迫研究工作。例如 Chen 等<sup>[11]</sup>利用模式植物拟南芥为材料,

经过甲基磺酸乙酯 (EMS) 诱变筛选并鉴定出一个与拟南芥耐镉性相关的突变体 *xcd1-D*, 克隆与其相应的基因 *MAN3*。研究表明, 在镉处理下, *MAN3* 基因的诱导表达可以使拟南芥体内的甘露聚糖水解酶活性及甘露糖水平有所增加, 从而激活谷胱甘肽 (GSH) 依赖的植物螯合素 (PC) 合成途径上的相关基因协调表达, 进而增强了拟南芥对镉的积累和耐受能力。该课题组对于该基因的研究最终揭示了植物响应重金属镉胁迫的分子调控机制, 为土壤重金属污染的植物修复基因工程提供了一定的基因资源和科学参考。

## 2 植物对镉的吸收、转运及积累

### 2.1 植物根部镉离子延迟的跨膜吸收

Nedelkoska 和 Doran<sup>[12]</sup>通过镉添加处理遏蓝菜 (*Thlaspi caerulescens*) 与烟草 (*Nicotiana tabacum*) 的根毛, 研究发现: 遏蓝菜根毛的生长速度在 20~50  $\mu\text{g}/\text{g}$  镉溶液中不受影响, 在 100  $\mu\text{g}/\text{g}$  镉溶液中生长仍然表现正常; 但是, 在 20  $\mu\text{g}/\text{g}$  镉溶液中烟草的根毛却出现变黑, 生长受到抑制; 同时, 在 20  $\mu\text{g}/\text{g}$  镉处理下, 对根及细胞壁中存在的镉进行分析发现, 烟草的根毛大约在 3 d 内就将吸收的镉运输到共质体, 而遏蓝菜的根毛在最初的 10 d 内几乎把所有吸收的镉均先贮存于细胞壁内, 然后向共质体中进行释放, 最终运输至遏蓝菜的茎部及叶部。此现象表明, 镉的跨膜吸收延迟现象是遏蓝菜抗镉的一个重要机制, 从而为其获得充裕的时间来启动自身细胞内一系列的重金属解毒机理。

最初的研究倾向于镉进入植物细胞无特定的方式, 由于镉在一些理化性质上与一些必需元素较为相似, 所以认为镉或许是通过与其他金属离子协调运输而进入植物细胞的。但是, 最近研究表明, 植物根部对镉的跨膜吸收延迟主要取决于细胞膜的表面电势, 这主要是由于细胞表面的电负性所形成的细胞膜电势影响着细胞的离子浓度, 进而影响金属离子对植物造成的毒害作用<sup>[13]</sup>。此外, 有报道指出, 一些重金属的转运体也参与植物根部对于镉的吸收过程, 如 Sasaki 等<sup>[14]</sup>研究发现, Nramp5 转运蛋白介导植物根部对镉离子的吸收。

### 2.2 重金属镉由根部向地上部分运输

镉从根部向茎部运输及其在地上部分累积是一个很复杂的过程<sup>[15]</sup>, 一般认为植物根部吸收的镉离子会通过内皮层和内层的凯氏带到达根部的维管束, 其中, 穿越内皮层和内层的凯氏带是较难进行

的过程,因此,该运输主要依靠凯氏带尚未完全形成的幼嫩的根部来实现。但是,近几年的研究发现,Heavy metal ATPase 家族中的 HMA2、HMA4 参与了镉由根部向地上部分的运输过程<sup>[16]</sup>。

### 2.3 镉在植物体内的积累

Florijn 等<sup>[17]</sup>认为,同一种植物的不同部位以及不同的物种或品种之间,对于镉的积累量存在很大的差别。一般而言,大多数植物对镉的吸收主要积累在根部,而地上部分各个组织中的含量较低。植物根部吸收的镉主要分布在质外体,此外,也能够与细胞质内的磷酸、草酸、柠檬酸等形成磷酸盐、碳酸盐沉淀,或与植物的细胞壁相结合<sup>[18]</sup>。近些年的研究表明,植物主要通过和细胞壁的结合、液泡的区域化以及和有机物的螯合等途径积累镉,进行解毒作用。目前,人们普遍认为镉在植物体内的积累主要体现在两个方面:一方面,从细胞水平而言,镉在植物体内的积累过程主要是在液泡及质外体中;另一方面,从组织水平上讲,此过程表现在植物的表皮细胞、亚表皮细胞及表皮毛中。据 Küpper 等<sup>[19]</sup>研究表明,芥菜的叶肉细胞是一个积累镉的重要部位。Chardonnens 等<sup>[20]</sup>研究发现,与镉耐性白玉草相比,镉敏感型白玉草(*Silene vulgaris*)的叶片中镉的含量更高。并且,对于白玉草的这两个株

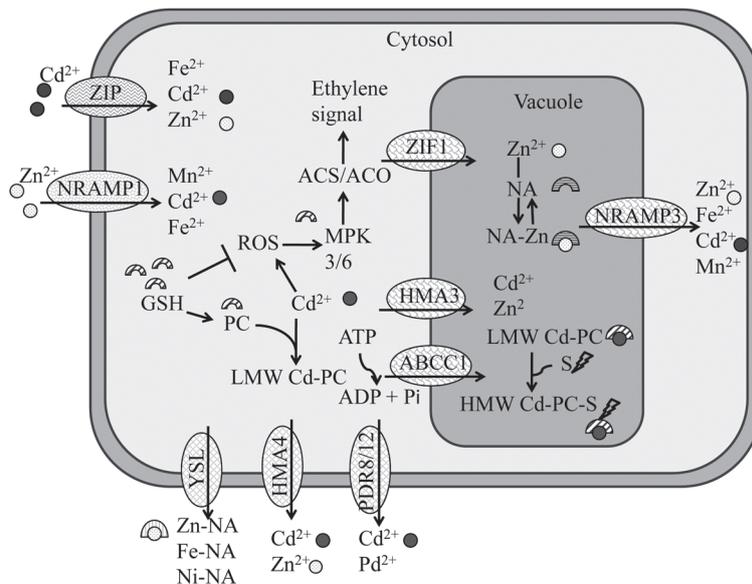
系而言,叶肉细胞中所含的镉浓度都比叶片整体水平低,而上表皮中镉的含量与叶片整体相当,但下表皮中镉的含量比叶片整体水平高。该现象表明,积累于白玉草下表皮中的镉很有可能是存在于它的细胞壁和液泡中。此外, Salt 等<sup>[21]</sup>在芥菜中发现大量的镉分布于叶表皮及表皮毛中。镉在植物中的这种分布可能是为了尽量减少镉对植物叶片造成的伤害,这是因为植物生长发育所必需的光合作用主要由叶肉细胞来完成,而表皮及表皮毛起到一定的保护作用。因此,植物将镉积累于细胞壁、液泡、表皮细胞或表皮毛中很有可能是植物进行解毒的方式之一。

## 3 植物抗重金属的分子机制

重金属镉对植物的细胞结构及其生理代谢活动产生一定的伤害,但是,植物在长期对环境的适应过程中,也会产生相应的防御机制,主要包括以下几方面(如图1所示)。

### 3.1 区域化作用

为了减少镉胁迫对自身生长发育的影响,植物可以通过多种途径增强对镉的耐性,主要包括根的保护作用、区域化作用、螯合作用等保护体系。外界物质要进入植物细胞必须经过其细胞壁这一道



实心圆点代表Cd<sup>2+</sup>,非实心圆点代表Zn<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup>等。YSL: yellow stripe-like protein family; ZIP: ZRT and IRT-like protein family; NRAMP: natural resistance associated macrophage protein family; HMA: heavy metal P-type ATPases; CDF: cationdiffusion facilitator; ABC: ATP-binding cassette transporters; NA: nicotianamine; GSH: glutathione; PC: phytochelatin; S: sulfide; LMW: low molecular weight; HMW: high molecular weight; MPK: mitogen-activated protein kinase; ACO: ACC oxidase; ACS: ACC synthase; ROS: reactive oxygen species.

图1 植物细胞对重金属的防御机制

屏障, 由于细胞壁中富含纤维素、果胶、蛋白质、半纤维素、木质素等物质, 所以, 当镉离子进入植物细胞时, 以上物质便与其结合, 阻止其进入细胞。此外, 植物的细胞质和液泡内含有的一些谷胱甘肽(GSH)、组氨酸、磷酸、草酸、柠檬酸盐等小分子物质, 一方面, 植物可以通过镉转运载体系统将镉离子转运至液泡中, 并与液泡中的这些物质结合, 通过对镉螯合或沉淀作用降低细胞内游离的镉离子浓度, 从而解除镉的毒性; 另一方面, 镉能够刺激植物螯合肽的合成, 并且与之络合形成贫硫低分子络合物, 在液泡膜上结合成不稳定硫, 形成对镉高亲和的高分子量络合物<sup>[18]</sup>, 并由液泡膜转运蛋白ABC超家族转运至液泡<sup>[22]</sup>。

区域化作用是通过把重金属镉运输到一些代谢活性不强的植物器官或亚细胞区域, 从而达到一定的解毒目的, 目前被视为一种很有效的解毒途径。研究认为, 细胞壁作为第一道防线可以保护植物免受镉的毒害。组成细胞壁的纤维素、木质素等物质具有丰富的羧基、羟基等活泼的基团, 当镉穿越细胞壁时, 有一部分镉会在此与这些基团发生结合并形成沉淀, 从而阻止进入原生质体内部镉的量, 降低对植物造成的毒害作用。熊愈辉和杨肖娥<sup>[23]</sup>报道, 禾秆蹄盖蕨(*Athyrium yokoscense*)根部细胞壁中镉积累的含量达到整个细胞总量的79%~90%。另外, 液泡区域化作用在高等植物对重金属的耐受性和解毒功能中也起重要作用。镉储存在液泡中可以减少镉对细胞质基质及其细胞器中各种生理代谢活动的伤害<sup>[24]</sup>, 如李兆君等<sup>[25]</sup>发现野生型啤酒酵母(*Saccharmyces cerevisiae*)对镉胁迫有较强的适应性, 啤酒酵母突变体由于缺少将镉运输到液泡的镉-谷胱甘肽复合物运输体, 而在镉胁迫下表现出敏感性的性状。此外,  $Cd^{2+}$ 的区域化作用也依赖于一些转运蛋白的参与, 如Heavy metal P-type ATPases<sup>[16, 26-27]</sup>。

### 3.2 螯合作用

植物螯合作用, 主要是通过类似金属硫蛋白(MT-like)、植物螯合素(PC)和金属硫蛋白(MT)等镉的天然配体, 对镉进行螯合, 从而缓解镉对植物的毒害作用。

植物螯合素(PC)能与金属离子螯合成较为稳定的硫肽复合物, 这些复合物能够由转运蛋白运输至胞外, 或者将其贮存于液泡等细胞器内, 降低对植物造成的毒害, 使植物能够螯合较多的污染物, 提高植物修复的效率。据报道, 玉米、小麦、烟草、西红柿、菜豆和甘蓝等植物中已经发现PC物质的

存在。Howden和Cobbett<sup>[28]</sup>分离拟南芥*cad1*突变体, 这些突变体由于缺乏PC合成系统而表现出PC合成酶活性水平降低, 导致拟南芥对镉的敏感性增加。近年来, 许多PC合成酶基因被分离和转入其他植物, 使得转基因植物对镉的耐性提高, 镉积累量增加。Harada等<sup>[29]</sup>通过过量表达半胱氨酸合成酶, 增加了转基因植物中PC的含量, 导致镉耐受性提高。Zhu等<sup>[30]</sup>在转基因的印度芥菜中过量表达相关PC合成酶, 表现出比野生植物更高的对Cd、Cu、Pb、Cr和Zn的吸收能力。Martinez等<sup>[31]</sup>将小麦PC合成酶基因*TaPCSI*转入烟草, 从而提高其对Zn、Pb、Cd、Ni的抗性, 该转基因烟草对镉和铅的抗性分别提高6倍和3倍。

植物金属硫蛋白(metallothionein, MTs)与来自动物的MT相类似, 是一类含有半胱氨酸, 相对分子质量较小, 易受到环境胁迫诱导表达, 能够结合金属离子的蛋白质。植物体内是否有金属硫蛋白目前还存在争议, 人们普遍认为植物缺乏此类蛋白, 即使有也可能是多个植物螯合素的结合或者类金属硫蛋白。人们在拟南芥、大豆、小麦及羊茅等植物中发现和克隆了编码该蛋白的基因<sup>[32]</sup>, 而转入*MT1*、*MT2*基因的烟草对镉的耐性有所增强<sup>[33-35]</sup>。拟南芥中转入*MT*基因之后, 也对镉有较强的耐受能力。金属离子、损伤、病毒侵染、热击等都可以诱导植物体内金属硫蛋白基因的表达和积累<sup>[36]</sup>。这证明植物体内存在的金属硫蛋白在缓解重金属毒害方面扮演着重要角色。

### 3.3 热激蛋白和泛素

植物热激蛋白能够诱导植物对重金属抗性的增加, 一些并不结合重金属的胁迫蛋白的合成对植物提高抗重金属胁迫能力有重要作用<sup>[37]</sup>。Shim等<sup>[38]</sup>发现小麦和水稻体内的热激蛋白转录因子ClassA4(HsfA4a)能够上调MT表达, 敲除后会降低小麦和水稻对镉的耐性。

泛素途径既能降解形态结构异常的蛋白, 又能降解转录因子、内膜和细胞周期蛋白等天然蛋白。因此, 在蛋白质降解、调节转录水平、调节蛋白质稳态、控制细胞周期和响应胁迫反应等方面都发挥重要作用<sup>[39-40]</sup>。环境胁迫能诱导细胞内部构象发生异常的蛋白的产生, 镉和砷等非必需的重金属元素及过量的必需金属元素铅和铜均能够强烈刺激菜豆泛素基因的转录<sup>[41]</sup>。

### 3.4 抗氧化系统

植物的抗氧化防卫系统包括能清除活性氧的酶

系和抗氧化物质,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽硫转移酶(GST)、过氧化物酶(CAT)等抗氧化酶类。植物中的多种抗氧化防御系统能够清除重金属胁迫导致大量的活性氧自由基,防止膜脂过氧化,保护细胞免受氧化胁迫的伤害<sup>[42]</sup>。

SOD作为抗氧化防御系统的第一道防线,可以催化两个 $O_2^-$ 发生歧化反应,生成 $H_2O_2$ 和 $O_2$ , $H_2O_2$ 随后被POD和CAT迅速分解为 $H_2O$ 和 $O_2$ ,从而阻止了 $H_2O_2$ 、 $O_2^-$ 在植物体内部的累积。Cu/Zn-SOD是植物细胞中最丰富的重金属结合蛋白,过量的重金属能够增加Cu/Zn-SOD酶的活性,该酶活性增加后,一方面可以清除植物体内超氧化物阴离子,减少ROS的积累;另一方面又能够与由分子伴侣运送来的重金属结合,从而降低细胞内重金属的浓度。植物遭受镉胁迫时会表现出不同程度的氧化现象,而最新研究表明,镉胁迫的信号传递与一些激素,如水杨酸(SA)、脱落酸(ABA)、乙烯,还有一系列含氮化合物,如一氧化氮(NO)、精胺(Spm)或亚精胺(Spd)等物质之间存在着某种信号通路的交叉对话,从而对其有解毒作用。如Tamás等<sup>[43]</sup>报道水杨酸处理可以缓解镉胁迫下大麦根尖生长素(IAA)的降低程度,抑制胁迫下大麦根尖的过氧化,防止过量活性氧(ROS)的积累,提高植物组织的抗氧化能力,从而维持大麦正常的渗透性和稳定性。Schellingen等<sup>[44]</sup>研究证明,乙烯信号参与拟南芥在镉胁迫下的氧化应答反应。李海燕等<sup>[45]</sup>报道,喷施外源NO能够显著地缓解镉胁迫对玉米幼苗生长发育构成的危害。韩超等<sup>[46]</sup>研究证明,添加合适浓度的外源ABA能够减轻镉胁迫下小麦幼苗生长发育的抑制,该作用主要是由于小麦体内保护酶活性和脯氨酸含量有所增加,导致小麦幼苗对镉胁迫的耐受能力有所增强。Rady等<sup>[47]</sup>研究发现,施用外源Spm或Spd对小麦进行提前浸种,可有效缓解镉胁迫对小麦幼苗生长造成的伤害。这主要是由于该过程可以有效地抑制膜脂过氧化,使得谷胱甘肽的含量得以极大地提高,同时,使谷胱甘肽还原酶的活性明显增强,从而使整个抗氧化循环高效运转,加强了小麦的酶促保护系统功能,从而清除活性氧,使小麦对镉的抗性得以增强。

谷胱甘肽硫转移酶(GST)是一类在植物体内种类丰富,容易被古老且高度歧化的基因家族所编码的金属离子结合蛋白。GST的主要功能在于其能够催化生物体内某些内外源的有害物质的亲电子基团

与谷胱甘肽中的巯基、咪唑基等疏水基团相结合,使其形成易被水溶解的物质,或者被降解,从体内排出,从而参与植物应对镉胁迫响应。

植物过氧化物酶(POD)是一个庞大的家族,在辣根中至少分离出15个POD;在拟南芥中,基于其基因组测序的完成,通过分析发现存在73个POD基因,其中在转录水平检测到71个<sup>[48]</sup>。植物过氧化物酶家族的基因众多、功能多样,对于单个基因的功能验证与表达存在一定的困难。谷胱甘肽含有巯基,具有很强的氧化还原特性,能够有效清除植物体内在逆境下产生的自由基。一般条件下,GSH的合成取决于半胱氨酸的活性,同时存在明显的反馈抑制现象;在重金属胁迫下,植物体内络合素被重金属离子激活并合成,从而对GSH的反馈抑制现象进行消除。Zhu等<sup>[30]</sup>报道,将大肠杆菌(*Escherichia coli*)的GSH1和GSH2分别转入印度芥菜,发现印度芥菜对镉的富集和耐受能力都出现明显增加的现象,并且此现象与GSH2的表达量呈现一定的正相关。但是,也有相反的报道,GSH2转入白杨树和野生型拟南芥中,并未发现它们对镉的耐性有所增强。

### 3.5 重金属积累相关蛋白

植物对重金属富集的一个重要原因即重金属离子在植物体内的转运。重金属离子进入细胞质后,可能与有机酸、苹果酸、草酸、植物螯合素、金属硫蛋白等物质相结合,通过液泡膜上的转运蛋白将镉离子运输至液泡并暂时性地储存于液泡中,运输至木质部导管,然后在根压和蒸腾流的作用下,随着导管向上运输。

植物中已经知道的与重金属累积相关的蛋白,主要包括一些重金属转运蛋白家族,如YSL蛋白家族(yellow stripe-like protein family)、锌铁转运蛋白家族(ZRT and IRT-like protein family)、铜转运蛋白家族(copper transport protein family)、天然抗性相关巨噬细胞蛋白家族(natural resistance associated macrophage protein family)、重金属P型ATPases(heavy metal P-type ATPases)、CDF(cationdiffusion facilitator)家族和ABC(ATP-binding cassette transporters)超家族等。

#### 3.5.1 黄色条纹蛋白家族

YSL蛋白家族(yellow stripe-like protein family)是一类重金属吸收蛋白,包括ZmYSL1、AtYSL2、TcYSL3等成员,其功能在于参与植物对铁离子螯合物的跨膜运输,同时,介导细胞对 $Fe^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$ 、

Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 等的转运与吸收过程<sup>[49]</sup>。Curie 等<sup>[50]</sup> 报道, 烟氨酸可以高度亲和 Fe<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup> 等金属离子, 而且 YSL 转运蛋白可以将其与 Fe<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup> 等金属离子结合形成的螯合物从植物根部排出。同时, Gendre 等<sup>[51]</sup> 研究发现, *Thlaspi caerulescens* 的芽和根中基因 *TcYSL3*、*TcYSL5*、*TcYSL7* 的不断过量表达, 会相应地产生一些 YSL 转运蛋白, 这些转运蛋白参与了金属离子在维管束中的转运, 以及螯合物从细胞中的排出。

### 3.5.2 自然抗性相关的巨噬细胞蛋白家族

自然抗性相关的巨噬细胞蛋白 (natural resistance associated macrophage protein family) 作为膜整合转运蛋白家族的一员, 具有离子通道及转运功能的特征, 在许多植物中起到金属转运体的作用, 如可以转运 Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 等。其中, AtNRAMP3 和 AtNRAMP4 位于拟南芥的液泡膜上, *nramp3*、*nramp4* 双突变植株存在缺铁的表型, 当给予充足的铁营养液时, 其缺铁的表型可得以缓解。Thomine 等<sup>[52]</sup> 研究发现, 位于拟南芥液泡膜上的 *AtNRAMP3* 基因在缺铁条件下, 其表达量会上调; 但是, 当敲除该基因时, 拟南芥根部的锌、锰含量会增加, 而超表达时却抑制锰的累积, 这说明 *AtNRAMP3* 对于一些金属离子间的平衡具有一定的调节作用。此外, Sasaki 等<sup>[14]</sup> 报道, 位于水稻根外皮及其中心部位的 *Nramp5* 基因是不起作用的。该课题组对水稻基因 *Nramp5* 进行敲除, 从而获得水稻突变体植株, 然后将突变体与野生型水稻种植于遭受镉污染的土壤。研究发现, 突变体水稻较普通野生型水稻中镉的含量明显偏低。该实验利用 *Nramp5a* 敲除突变体和 RNA 干扰系最终证明了 OsNRAMP5 是水稻中主要的镉吸收转运蛋白。

### 3.5.3 P型ATPases

P 型 ATPase 定位在细胞膜上, 是一种能够与 ATP 结合的重金属排出蛋白, 其功能在于将无机阳离子传入或排出细胞, 可以作为一种阳离子泵来进行能量的转运。P 型 ATPase 基因家族广泛存在于细菌、植物和人类中, 根据其转运底物类型可以将其分为 5 个亚家族: Heavy metal ATPase (HMA, P<sub>1B</sub>)、Ca<sup>2+</sup>-ATPase (P<sub>2A</sub>、P<sub>2B</sub>)、H<sup>+</sup>-ATPase (P<sub>3A</sub>)、氨基磷脂 ATPase (ALA, P<sub>4</sub>) 和一个底物特异性未知的 P<sub>5</sub>-ATPase (P<sub>5</sub>)<sup>[53]</sup>。其中, P<sub>1B</sub> 型 ATPase 不仅能够运输植物所必需的金属离子, 如 Cu<sup>+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup> 和 Co<sup>2+</sup>, 还能转运一些重金属离子, 如 Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup> 和 Ag<sup>+</sup>, 故 P<sub>1B</sub> 型 ATPase 又被称为重金属 ATP 转运蛋

白<sup>[54]</sup>。P<sub>1B</sub> 型 ATPase 基因广泛存在于低等植物和高等植物中。双子叶模式植物拟南芥含有 8 个 HMA 基因, *AtHMA1~8*<sup>[53-54]</sup>; 单子叶植物水稻含有 9 个 HMA 基因, *OsHMA1~9*<sup>[53-54]</sup>; 大麦含有 10 个 HMA 基因, *HvHMA1~10*<sup>[55]</sup>; 低等植物绿藻含有 3 个 HMA 基因, *CrHMA1~3*; 红藻有 2 个 HMA 基因, *CmHMA1~2*<sup>[56]</sup>。

Wu 等<sup>[26]</sup> 研究发现, 3 个拟南芥 bHLH 转录因子 FIT、AtbHLH38 和 AtbHLH39 参与对镉胁迫的响应。在高浓度的镉处理条件下, *FIT*、*AtbHLH38* 和 *AtbHLH39* 这 3 个基因表达量均显示上调, 而且双过量表达 *FIT/AtbHLH38* 和 *FIT/AtbHLH39* 的转基因植株表现出比野生型更耐受镉的胁迫。实验证明, 这主要是由于 FIT 与 AtbHLH38 或 AtbHLH39 之间存在互作, 可以组成性地诱导一些与重金属区隔化相关基因的表达, 如 *HMA3* 和 *MTP3*, 从而将吸收的大部分镉区隔化于根部, 降低了镉由根部向地上部分的运输。

Sasaki 等<sup>[27]</sup> 在水稻中发现, P 型 ATPases 家族中的 *OsHMA3* 基因过量表达可以降低茎秆和籽粒中的镉浓度, 但是籽粒中其他必需营养元素的含量并未减少, 如锌。这就说明 *OsHMA3* 能够将进入细胞的镉运输至液泡中, 通过区室化作用缓解镉对细胞的毒害, 并阻止镉继续向地上部运输。并且 *OsHMA3* 的等位基因 *OsHMA3mc* 编码一个具有功能缺陷性的 *OsHMA3* 转运蛋白, 该转运蛋白无法将镉运输到液泡中隔离起来, 从而增加了地上部及籽粒中镉的含量<sup>[57]</sup>。以上这些研究均表明 HMA3 具有作为离子泵排出镉或者缓冲其毒性的功能。

### 3.5.4 ABC载体

ABC 家族是一个具有很强转运功能的膜蛋白家族, 主要定位于液泡膜<sup>[58]</sup>。目前为止, 在植物中已经发现该超家族的 2 个主要亚基: MRPs 和 MDRs<sup>[59-60]</sup>。ABC 载体在液泡中是以重金属螯合物的形式对镉进行吸收而发挥重要作用的。MRPs 被认为可能是参与跨液泡膜转运镉螯合物或者 GS-Cd 复合体。

Lee 等<sup>[61]</sup> 报道, 拟南芥 ABC 载体家族中 *AtPDR12* 表达的植株具有对铅更高的耐受力。研究发现, 与野生型植株相比, 敲除 *AtPDR12* 基因的植株长势明显较弱, 含有浓度相对较高的铅; 相反, *AtPDR12* 完全表达的植株则具有更良好的长势且植株含铅量较少, 这表明 *AtPDR12* 具有作为离子泵排出铅或者缓冲其毒性的功能。

Song 等<sup>[62]</sup>在水稻中发现 ABC 载体家族中的 *OsABCC1* 表达的植株具有对砷更高的耐受力, 敲除 *OsABCC1* 基因的植株对砷的耐性减弱, 但是对镉毒性没有影响。与野生型水稻相比, 敲除 *OsABCC1* 基因的植株的长势较差, 并具有更高的镉浓度。以上的研究均证实 ABC 家族在植物对重金属解毒方面发挥着重要作用。

#### 4 结语

总之, 重金属对土壤的污染已经成为人们所面临且亟待解决的环境污染问题之一。重金属对土壤的污染不仅影响植物的生长发育, 导致农作物产量与质量的降低, 而且经过食物链进入人体, 对人类的食品安全和生命健康构成严重的威胁。

目前, 有关重金属污染土壤的生物修复技术问题, 尤其是植物修复技术, 成为了国内外学者关注和研究的热点。随着人们对耐镉性超累积植物的发现, 在镉的吸收、转运及其耐镉机理等方面取得了较大进展。其中, 植物对镉的吸收、转运等方面可能会受到一系列基因的调控, 但是, 不同的植物在镉污染的条件下存在一定差别, 这可能与基因表达差异存在一定联系。随着分子生物学的不断发展, 有关植物耐镉性研究工作的开展可以从以下两个方面着手: (1) 研究单个转运蛋白的基因及其相应的功能; (2) 从整体水体研究不同转运蛋白之间的相互关系及调控途径。人们对于在低浓度镉水平下不同植物表现出来的生长促进作用, 以及植物耐镉的关键因子与植物的耐镉机理调控机制等, 还知之甚少。因此, 有必要借助于植物生理学、基因工程技术、生物信息学等手段, 加强对植物耐镉机理调控机制的研究; 同时, 筛选重金属含量低的农作物, 克隆超累积植物耐性关键基因, 并在非超累积植物中进行应用, 为重金属污染的土壤修复提供一些理想的植物资源; 而且, 今后应该加强对植物遭受镉胁迫的信号传递及其与其他激素信号通路的交叉对话的研究。对以上问题的深入研究, 将有助于最终阐明植物对重金属镉胁迫的响应及其分子机理。

#### [参 考 文 献]

[1] Koeppel DE. The uptake, distribution, and effect of cadmium and lead in plants. *Sci Total Environ*, 1977, 7: 197-206

[2] Hart JJ, Welch RM, Norvell WA, et al. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant*

*Physiol*, 1998, 116: 1413-20

[3] Schroeder WH, Munthe J. Atmospheric mercury-an overview. *Atmos Environ*, 1998, 32: 809-22

[4] 宋波, 陈同斌, 郑袁明, 等. 北京市菜地土壤和蔬菜镉含量及其健康风险分析. *环境科学学报*, 2006, 26: 1343-53

[5] 何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 等. 不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应. *生态学报*, 2011, 31: 522-8

[6] 张利红, 李培军, 孟雪莲, 等. 镉胁迫对小麦幼苗生长及生理特性的影响. *生态学杂志*, 2005, 24: 458-60

[7] 崔玮, 张芬琴, 金自学.  $Cd^{2+}$  处理对两种豆科作物幼苗生长的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23: 60-3

[8] Duan CQ, Wang HX, Qu ZX. Studies on the effects of heavy metals on the contents of nucleic acids and activities of nucleases in the tips of *Vicia faba*. *J Environ Sci: China*, 1992, 13: 31-5

[9] 谢惠玲, 陈爱萍, 张凤英, 等. 紫苏对不同浓度镉胁迫的影响. *中国生态农业学报*, 2011, 19: 672-75

[10] Yang XE, Long XX, Ye HB, et al. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyper accumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). *Plant Soil*, 2004, 259: 181-9

[11] Chen J, Yang LB, Gu J, et al. *MAN3* gene regulates cadmium tolerance through the glutathione-dependent pathway in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 2015, 205: 570-82

[12] Nedelkoska TV, Doran PM. Hyperaccumulation of cadmium by hairy roots of *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnol Bioeng Symp*, 2000, 67: 607-15

[13] Wang P, Zhou DM, Kinraide TB, et al. Cell membrane surface potential ( $\psi_0$ ) plays a dominant role in the phytotoxicity of copper and arsenate. *Plant Physiol*, 2008, 148: 2134-43

[14] Sasaki A, Yamaji N, Yokosho KG, et al. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *Plant Cell*, 2012, 24: 2155-67

[15] Krämer U. Cadmium for all meals-plants with an unusual appetite. *New Phytol*, 2000, 145: 1-3

[16] Takahashi R, Bashir K, Ishimaru Y, et al. The role of heavy-metal ATPases, HMAs, in zinc and cadmium transport in rice. *Plant Signal Behav*, 2012, 7: 1605-7

[17] Florijn PJ, Van Beusichem ML. Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines. *Plant Soil*, 1993, 150: 25-32

[18] Rauser WE. Phytochelatins and related peptides. Structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiol*, 1995, 109: 1141-9

[19] Küpper H, Lombi E, Zhao FJ, et al. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Planta*, 2000, 212: 75-84

[20] Chardonens AN, Bookum WM, Kuijper LD, et al. Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *Silene vulgaris*. *Plant Physiol*, 1998, 104: 75-80

[21] Salt DE, Wagner GJ. Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. Evidence for a  $Cd^{2+}/H^{+}$  antiport activity. *Biol Chem*, 1993, 268: 12297-302

- [22] Park JY, Song WY, Ko DH, et al. The phytochelatin transporters AtABCC1 and AtABCC2 mediate tolerance to cadmium and mercury. *Plant J*, 2012, 69: 278-88
- [23] 熊愈辉, 杨肖娥. 镉对植物毒害与植物耐镉机理研究进展. *安徽农业科学*, 2006, 34: 2969-71
- [24] Whiting SN, Leaker JR, Mcgrath SP, et al. Positive responses to Zn and Cd by roots of the Zn and Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol*, 2000, 145: 199-210
- [25] 李兆君, 马国瑞, 徐建民, 等. 植物适应重金属Cd胁迫的生理及分子学机理. *土壤通报*, 2004, 35: 235-7
- [26] Wu HL, Chen CL, Du J, et al. Co-overexpression *FIT* with *AtbHLH38* or *AtbHLH39* in *Arabidopsis*-enhanced cadmium tolerance via increased cadmium sequestration in roots and improved iron homeostasis of shoots. *Plant Physiol*, 2012, 158: 790-800
- [27] Sasaki A, Yamaji N, Ma JF. Overexpression of *OsHMA3* enhances Cd tolerance and expression of Zn transporter genes in rice. *J Exp Bot*, 2014, 65: 6013-21
- [28] Howden R, Cobbett CS. Cadmium-sensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 1992, 100: 100-7
- [29] Harade E, Choi YE, Tsuchisaka A, et al. Transgenic tobacco plants expressing a rice cysteine synthase gene are tolerant to toxic levels of cadmium. *J Plant Physiol*, 2001, 158: 655-61
- [30] Zhu YL, Eah PS, Tarun AS, et al. Cadmium tolerance and accumulation in Indian mustard is enhanced by overexpressing  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiol*, 1999, 121: 1169-77
- [31] Martiez M, Bernal P, Almela C, et al. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere*, 2006, 64: 478-85
- [32] Murphy A, Zhou JM, Goldsbrough PB, et al. Purification and immunological identification of metallothioneins 1 and 2 from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 1997, 113: 1293-301
- [33] Misra S, Edamu L. Heavy metal tolerant transgenic *Brassicanapus* L. and *Nicotiana tabacum* L. plants. *Theor Appl Genet*, 1989, 78: 161-8
- [34] Pan A, Yang MZ, Tie F, et al. Expression of mouse metallothionein-I gene confers cadmium resistance in transgenic tobacco plants. *Plant Mol Biol Rep*, 1994, 24: 341-51
- [35] 陈虹, 姜廷波, 丁宝建, 等. 转怪柳金属硫蛋白基因(ML1)烟草的获得及对重金属镉的抗性分析. *农业生物技术学报*, 2007, 15: 247-56
- [36] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理. *应用与环境生物学报*, 2001, 7: 92-9
- [37] Neumann D, Lichtenberger O, Günther D, et al. Heat-shock proteins induce heavy-metal tolerance in higher plants. *Planta*, 1994, 194: 360-7
- [38] Shim D, Hwang JU, Lee JY, et al. Orthologs of the class A4 heat shock transcription factor *HSA4A* confer cadmium tolerance in wheat and rice. *Plant Cell*, 2009, 21: 4031-43
- [39] Jungmann J, Reins HA, Schobert C, et al. Resistance to cadmium mediated by ubiquitin-dependent proteolysis. *Nature*, 1993, 361: 369-71
- [40] Tanaka K. Proteasomes: structure and biology. *J Biol Chem*, 1998, 273: 195-204
- [41] Jungmann J, Reins HA, Lee J, et al. MAC1, a nuclear regulatory protein related to Cu-dependent transcription factors is involved in Cu/Fe utilization and stress resistance in yeast. *EMBO J*, 1993, 12: 5051-6
- [42] 李春喜, 张志娟, 张岱静, 等.  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 胁迫对小麦幼根SOD活性及其基因表达的影响. *中国农业科技导报*, 2011, 13: 92-8
- [43] Tamás L, Mistrík I, Alemayehu A, et al. Salicylic acid alleviates cadmium-induced stress responses through the inhibition of Cd-induced auxin-mediated reactive oxygen species production in barley root tips. *J Plant Physiol*, 2015, 173C: 1-8
- [44] Schellingen K, Van Der Straeten D, Remans T, et al. Ethylene signalling is mediating the early cadmium-induced oxidative challenge in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 2015, 239: 137-46
- [45] 李海燕, 郭永成, 李刘洋, 等. 外源一氧化氮对镉胁迫下玉米幼苗根生长及氧化伤害的影响. *西北植物学报*, 2012, 32: 1599-605
- [46] 韩超, 申海玉, 叶嘉, 等. 外源脱落酸对小麦幼苗抗镉胁迫能力的影响. *西北植物学报*, 2012, 32: 745-50
- [47] Rady MM, Hemida KA. Modulation of cadmium toxicity and enhancing cadmium-tolerance in wheat seedlings by exogenous application of polyamines. *Ecotox Environ Safe*, 2015, 119: 178-85
- [48] Tognolli M, Penel C, Greppin H, et al. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 2002, 288: 129-38
- [49] 张丽婷, 王志强, 马兴立, 等. 植物中锌转运蛋白的研究进展. *贵州农业科学*, 2014, 42: 55-60
- [50] Curie C, Cassin G, Couch D, et al. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe1-like transporters. *Ann Bot*, 2009, 103: 1-11
- [51] Gendre D, Czernic P, Conéjéro G, et al. TcYSL3, a member of the YSL gene family from the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*, encodes a nicotianamine-Ni/Fe transporter. *Plant J*, 2007, 49: 1-15
- [52] Thomine S, Lelièvre F, Debarbieux E, et al. AtNRAMP3, a multispecific vacuolar metal transporter involved in plant responses to iron deficiency. *Plant J*, 2003, 34: 685-95
- [53] Baxter I, Tchieu J, Scssman MR, et al. Genomic comparison of P-type ATPase ion pumps in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol*, 2003, 132: 618-28
- [54] Argüello JM, Eren E, Gonzá lez-guerrero M. The structure and function of heavy metal transport P1B-ATPases. *Biomaterials*, 2007, 20: 233-48
- [55] Williams LE, Mills RF. P1B-ATPases- an ancient family of transition metal pumps with diverse functions in plants. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 491-502
- [56] Mills RF, Valdes B, Duke M, et al. Functional significance of AtHMA4 C-terminal domain in planta. *PLoS One*, 2010, 5: e13388

- [57] Miyadate H, Adachi S, Hiraizumi A, et al. OsHMA3, a P1B-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles. *New Phytol*, 2011, 189: 190-9
- [58] Colangelo EP, Guerinot ML. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, 9: 322-30
- [59] Theodoulou FL. Plant ABC transporters. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1465: 79-103
- [60] Martinoia E, Klein M, Geisler M, et al. Multifunctionality of plant ABC transporters-more than just detoxifiers. *Planta*, 2002, 214: 345-55
- [61] Lee MY, Lee K, Lee JY, et al. AtPDR12 contributes to Lead resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2005, 138: 827-36
- [62] Song WY, Yamakib T, Yamajib N, et al. A rice ABC transporter, OsABCC1, reduces arsenic accumulation in the grain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 15699-704