

# 植物清除环境污染物的策略及应用

焦芳婵, 毛 雪, 李润植

(山西农业大学农业生物工程研究中心, 山西 太谷 030801, E-mail: Lirunzhi@public.yz.sx.cn)

**摘要:** 综述了无机污染物和有机污染物的植物修复策略及应用。指出植物具有许多内在的遗传和生化生理特性, 利用植物抽提、隔离、解除污染物毒性来清除土壤和水体环境污染物已取得明显进展, 相对于机械去污法, 植物修复已被广泛地认为是一种生态可靠的替代方法。

**关键词:** 植物修复; 环境污染; 转基因植物

**中图分类号:** X173   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1000 - 0267(2002)03 - 0281 - 04

## Strategies and Application of Clean - up of Environmental Pollutants by Plants

JIAO Fang-chan, MAO Xue, LI Run-zhi

(Center for Agricultural Biotechnology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, P. R. China,

E-mail: Lirunzhi@public.yz.sx.cn)

**Abstract:** Plants have many endogenous genetic and biochemical and physiological properties that make it possible as ideal agents for soil and water remediation. Significant progress has been made in recent years in developing native and genetically modified plants for the remediation of environmental contaminants. Phytoremediation is a method using plants to extract, sequester and detoxify pollutants. As compared with physical remediation methods, it is widely regarded as an ecologically responsible method. In this paper, phytoremediation strategies and application for clean - up of non - organic and organic pollutants are summarized.

**Keywords:** environmental pollutants; phytoremediation; transgenic plants

植物修复的污染物主要包括无机污染物和有机污染物。这些化合物对人和动物有毒,且常引起畸形和癌变。无机污染物的植物清除途径主要是:植物吸收和转运毒性阳离子或氧化阴离子到植物地上部分组织中,有待以后收获;将毒性元素转化成毒性较小的化学分子;将元素隔离在根部以阻止其从污染点扩散等。植物对有机污染物的清除主要是将其完全矿化成相对无毒的组分,如 CO<sub>2</sub>、硝酸盐、氯气、氨。

## 1 植物清除无机污染物的策略

### 1.1 植物对无机污染物的吸收、转运和超量积累

植物根的表面,具有非常大的表面积和高亲和性化学元素受体(high-affinity chemical receptor)<sup>[2]</sup>,能特异地从土壤中吸收无机元素营养。在吸收过程中,根表面结合许多化学污染物和营养物质。如一种十字花科植物印地安芥子(*Brassica juncea*)能很快地聚集 Cd(II)、Ni(II)、Pb(II)和 Sr(II)进入根组织中<sup>[2]</sup>。向日葵能从铀污染的水体中富集 30 000 倍的铀。同样,烟草根部可使液体培养基中加入的(1-5mg·L<sup>-1</sup>) Hg[II]浓度在几小时内降低 100 倍<sup>[3]</sup>。然而,在土壤中,这些吸收过程

比在液体培养基中的有效性降低,因为在土壤中,植物根部的吸收活性要受到土壤多种特性的影响。

多数植物清除污染物的策略是在其地上部分中有效地超量积累(hyperaccumulation)污染元素。超量积累即植株干重中金属离子含量> 0.1%—1%<sup>[4]</sup>。当植物组织中金属离子超过此浓度时,从植物组织中回收金属则具有潜在的经济效益。植物超量积累的研究已有很长的历史。一个世纪以来,具有特殊重金属需求或高水平重金属耐性的特有植物种类,已被广泛地用作矿物沉积的指示植物<sup>[4]</sup>。能超量积累 Zn、Ni、Cd 的植物多为十字花科的植物,但也有许多其它分类群的植物。一种十字花科植物(*Alyssum lesbiaeum*)能够生长在富含 Ni(II)的基质中,它能迅速地吸收 Ni(II)转运至植物体内,且 Ni(II)的累积超过地上部分干重的 3%<sup>[5]</sup>。相反,一个相近的十字花科植物(*Alyssum montanum*)对 Ni(II)较敏感,不能超量积累 Ni(II)<sup>[5]</sup>。这表明控制植物对重金属耐性及其超量积累的遗传位点是有限的。对根部受到 Ni(II)或 Co(II)胁迫的 3 个超量积累植物研究表明,木质部液流中金属含量和组氨酸间存在线性关系。在这些植物组织中,Ni 的大部分形式是 Ni-组氨酸复合体。在另一个油菜属超量积累植物(*Thlaspi goesingense*)中,组氨酸可能只参与 Ni(II)和 Zn(II)从根际到根的代谢和转运<sup>[6]</sup>。进一步深入研究植物超量积累重金属的遗传机理,有助于在更广泛的植物范围内进行遗传操作。

收稿日期: 2001 - 05 - 17; 修订日期: 2001 - 07 - 10

基金项目: 山西省青年学科带头人基金资助项目

作者简介: 焦芳婵(1975—),女,硕士,研究方向为植物生物技术。

通讯联系人: 李润植

尽管有关植物转运营养物质和污染元素的详尽生理机制还不十分清楚,现有资料表明,锌载体(zinc transporter, ZIP)蛋白的两个相关亚族,参与 Zn(II)和 Fe(II)的吸收<sup>[7]</sup>。这两种载体蛋白具有膜外结合基序 HXHXH。拟南芥 ZIP1、ZIP2 和 ZIP3 基因代表的 ZIP 亚族,可互补酵母缺 Zn(II)变异。此外,ZIP1 和 ZIP3 在根中表达受锌缺失诱导,这些基因无疑在植物吸收土壤锌的过程中起直接作用。这三个 Zn 转运载体蛋白活性可被 Mn(II)、Cd(II)和 Cu(II)抑制,表明 ZIP 除转运营养物质外,还可转送毒性元素。拟南芥的铁转运载体(iron transporter, ITR1)是典型的铁载体 Fe[II]蛋白。ITR1 在根部表达,铁缺失可诱导其表达水平增加。它是正常铁利用所必需的,能互补酵母铁吸收缺失变异体,使之正常吸收铁。ITR1 蛋白能积极有效地转运 Cd(II)和 Zn(II)<sup>[8]</sup>。长期以来人们认为铁饥饿植物可吸收高水平的其它可能有毒的金属离子(如 Cu[II]、Mn[II]和 Zn[II])。所以,似乎是 ZIP1、ZIP2、ZIP3、ITR1 以及相关可诱导的转运载体提供了通道,在植物经历营养元素缺失或胁迫时,植物可采用这些通道积极主动地吸收毒性离子。

### 1.2 植物分泌有机酸以增加或减少无机污染物的吸收

酸性土壤常产生特殊的毒性问题。在酸性土壤条件下,许多重金属元素的可溶性增加,且可被转运到植物根部,即使是营养金属元素如 Al(III)和 Mn(II),在土壤 pH 低于 5.0 时,亦对植物产生毒害。在酸性土壤中,Al(III)胁迫一旦发生,即可激活一种 Al(III)抗性玉米突变体的相关基因表达,从根部释放柠檬酸进入基质<sup>[9]</sup>,柠檬酸可螯合许多金属,特别是 Al(III)复合物,从而阻止这些物质的吸收。另一个 Al(III)抗性拟南芥突变体有助于证实这一简单有机酸在转运中的作用<sup>[10]</sup>。这些突变体组成型分泌柠檬酸进入基质,使之吸收较少的 Al(III)。柠檬酸阻封植物根对 Al(III)吸收的能力已被转基因烟草和番木瓜的实验证实。这些转基因植物过量表达一种细菌柠檬酸合成酶基因。柠檬酸合成酶是一个 Kerd's 循环酶,它能结合一个乙酰基和草酰乙酸形成柠檬酸。这些转基因植物产生的过量柠檬酸被分泌进入生长基质,赋予植物对 Al(III)毒性更大的抗性。

与柠檬酸减少 Al(III)吸收作用相反,植物根分泌的许多有机螯合物可增加金属离子的吸收和转运。在营养金属离子缺失胁迫反应中,植物可分泌一些有机酸螯合物,这些螯合物的产生有利于将与土壤紧密结合的金属元素转送至植物组织中。人工合成的螯合物具有类似的效应,如将 EDTA 加入 Pb(II)污染的土壤中,植物对 Pb-EDTA 螯合物的吸收和转送的增加可超过 100 倍<sup>[11]</sup>。因此,植物可通过增加特殊有机酸的分泌,增加或减少金属污染物的吸收和运输。

### 1.3 植物对有毒元素的生物转化

植物修复的另一机理是将毒性元素转化成相对无毒的形式。许多元素(如砷、汞、铁、铬、硒)以多种状态存在,包括不同的阳离子、氧代阴离子等形式。它们在植物体内转运、积累和对人类及其它生物产生毒害时,形式都不相同。

汞污染被认为是最严重的环境污染问题之一。由于金矿、工业、燃烧废料以及医疗废物等使得汞和汞离子(Hg[II])释放

到环境中去。一旦进入环境,它们被生物有机体吸收后,在体内可生成比其它天然汞化合物毒性更大的甲基汞(MeHg)。由于 MeHg 对人类健康危害严重,人们正在寻求利用转基因植物阻止 MeHg 进入环境的途径。

Meagher R. B. (2000) 实验室利用来自细菌 mer 操纵子的两个基因 merA 和 merB,在植物体内进行汞转化及其清除实验<sup>[1]</sup>。细菌 merA 基因编码一种依赖 NADPH 的汞离子还原酶,它将离子汞(Hg[II])转化成金属汞(Hg[0])。金属汞比离子汞的毒性降低约 2 个数量级,且易挥发性而被清除。组成型表达 merA 的转基因植物,与非转基因的对照相比,忍耐 Hg(II)浓度至少大 10 倍<sup>[1]</sup>。这些植物将 Hg[0]挥发掉或可能从组织中排出,它们积累的汞远少于生长在低浓度条件下的对照植株<sup>[3]</sup>。因植物是自养的,并有大量的根系统,所以它们应该能加快汞的清除速率。

细菌 merB 基因编码一个有机汞裂合酶,将 MeHg 降解成甲烷和 Hg[II]。这个基因仅在与 merA 结合的细菌中表达,使得细菌 mer 操纵子的终产物总是 Hg[0]。在适宜的 MeHg 浓度中,表达 merB 转基因植物能明显积累 Hg[II]。例如,转 merA 和 merB 基因的烟草(*Nicotiana tabacum*)和黄白杨(*Liriodendron tulipifera*)已经表现出耐汞能力的提高(Rugh 等,2000)。同时表达 merA 和 merB 的转基因植物,将有机汞转化为 Hg[0],通过挥发而从植物中释放出来,并对杀死对照植株的 MeHg 浓度高出 50 倍的浓度表现耐性。

硒和硫是具有非常相似化学特性的营养元素,它们的吸收和同化过程是通过共同的途径。尽管硫在相当大的浓度范围内为所有有机体必需,但高水平的硒是有毒的。硒的毒性最大时,是它被代谢成半胱氨酸和甲硫氨酸类似物参与蛋白质的合成。控制硒的解毒作用有两条途径:其一是耐高含量硒的 *Astragalus* 属植物能超量积累硒,这个属为什么能耐受如此高浓度还不清楚;另一解毒机理是硒酸盐被转化成双甲基硒,它比硒酸盐毒性小 100 倍,且易从叶和根中挥发掉。通过根际细菌的其它活性,硒的挥发性也能被增强。

化学转化也是离子代谢的重要步骤,Fe(III)是典型被氧化土壤中的主要离子形式,它难以被植物利用,若被利用,也是有毒的。高效率铁离子(iron-efficient)植物如拟南芥利用还原机理从土壤中抽提铁。在根的表面,Fe(III)被螯合物还原酶(FRO2)还原成少毒的亚铁离子 Fe(II)<sup>[12]</sup>,并被 ZIP 亚铁离子转运蛋白转运至植物根细胞中。由此表明,FRO2 除了对营养元素的吸收外,在根的表面还可降低有毒元素的毒性。

### 1.4 植物对有毒元素的区域隔离

植物中已发现存在两类富含半胱氨酸的多肽,即金属硫蛋白(metallothioneins, MTs)和植物螯合肽(phytochelations, PCs)。Ag(I)、AsO<sub>3</sub>(-III)、Cd(II)、Co(II)、Hg(II)和 Ni(II)等金属,是通过与半胱氨酸残基上的有机硫(R-SH)结合而被隔离。尽管 MTs 和 PCs 在活体中精确特异性还未详尽阐明,但在离体条件下,MTs 形成具有与硫醇盐系列特异性有关的金属配体,而与阴离子结合,其特异性表现为:Bi> Hg> Ag> Cu> Cd> Pb> Zn。植物具有一个复杂的 MT 基因家族,编码由 60—80 个

氨基酸组成的多肽,且含有 9—16 个半胱氨酸残基。MT 被认为可护送营养金属元素到它们发挥各种必要作用的地方(如在蛋白质折叠过程中,插入到酶活性中心)。然而,MT 也能保护植物免受毒性金属离子的影响,且使它们积累起来。例如,过量表达 MT 的 32 个氨基酸金属结合  $\alpha$ - 域的转基因植株,提高了对 Cd(II) 的中等程度抗性,且 Cd(II) 的积累增加。MT-金属复合体可被谷胱甘肽化,这表明此复合体可被转运到液泡,以便长期隔离。有人曾把原在中国仓鼠中的屏蔽基因(即可将重金属离子排出的基因)导入一种十字花科——芜菁的体内,此种植物可将土壤中的镉留在植物根部,阻止它到达植物的茎、叶、果实的部位,这对保护人畜的健康很有好处。

PCs 是非核糖体合成的多肽,能形成具有营养和毒性金属的配体复合体,且帮助运送到液泡,在液泡中这些金属元素被隔离。PCs 合成的变异体或者 PCs 前体三肽-谷胱甘肽酶(GSH)都对 Cd(II) 和许多其它 S-反应金属(sulfur-reactive)高度敏感,这表明 PCs 在保护植物免受毒性元素毒害中的作用。过量表达细菌谷胱甘肽合成酶(GS)的油菜转基因植株进一步证实这种作用<sup>[13]</sup>。这些转基因植株具有高水平的 GSH 和 PC,增加了对 Cd(II) 的耐性,且比对照植株积累更多的 Cd(II)。编码整合肽合成酶(PS)的植物、动物和真菌基因最近已被鉴定<sup>[14]</sup>。进一步克隆这些基因和培育转基因植物,在改良植物清除元素污染物方面具有潜在的应用价值。在基质中 Cd(II) 胁迫下,植物 PS 合成增加了好几倍,这意味着 PS 在毒性金属代谢中起直接作用。在转基因酵母中植物 PS 的过量表达增加了对 Cd(II) 耐性和 Cd(II) 的积累<sup>[14]</sup>。很明显,通过对 GSH 和 PC 基因的遗传操作有利于提高植物对毒性元素的积累及其耐性。

Rausser(1984) 分离到两种镉结合蛋白,其氨基酸组成既不同于已知的 PC 也有别于 MT。由此看来,植物体内还存在其它的金属结合肽。如紫羊茅(*Festuca rubra* L. *cvertin*)是一种采自英国重金属污染矿区的单子叶草种,对多种金属表现出明显的抗性,在  $50 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  镉离子胁迫下,紫羊茅根细胞的细胞质中诱导产生一种镉离子结合肽,其性质就类似于 PC。

## 2 植物清除有机污染物的策略

有机污染物能潜在地被化学降解和最终矿化成无害的生物化合物,但它们必须首先从污染的场所被有效地提取出来。尽管我们对于植物降解有机污染物的基本知识远远落后于动物和细菌,但植物根系复杂的生理生化特性给植物作为有机污染物清除剂提供了很大的潜力。

植物含有未知特性的降解 TCE 能力的芳香族脱卤酶。在对野生生命和人类构成威胁的工业溶剂中,TCE 是地面水和土壤中分存最广的有机污染物,TCE 是难代谢的、有毒的、致癌的。生长在污染环境中的植物吸收 TCE,有效地排出 TCE,并通过根际细菌降解 TCE。然而,只有到最近才清楚,植物酶在降解过程中起重要作用。实验表明,无菌生长的杂交白杨(*populus* sp.) 主动地吸收 TCE 并降解成三氯乙醇、乙酸盐,最后成为  $\text{CO}_2$ <sup>[15]</sup>。这些实验表明植物体内存在一个氧化性的降解途径,

且与细菌中发现的还原作用不同。

植物能够降解高度有毒、致癌,且难以被代谢的芳香族化合物。TNT 和在军火上常用的有关硝基取代的有机化合物大家族(如 RDX,GTN),它们严重污染环境。来自不同科的许多植物似乎都能降解 TNT,但只有一些植物十分有效。这些植物降解途径的终产物是  $\text{CO}_2$ 、铵或氨。例如,无菌生长的 *Microphyllum aquaticum* 植物和 *Gartharanthus roseus* 毛根培养物都能部分降解 TNT 和释放中间产物进入生长基质中<sup>[16]</sup>。甜菜碱的纯细胞培养物将 GTN 降解成 GDN 和 GMN<sup>[17]</sup>。*Gartharanthus roseus* 毛根培养物能够降解在几天内加入到纯培养基质中的  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  TNT 的大部分<sup>[18]</sup>。这些酶特异活性没有从细菌 TNT 降解种类中观察到的活性大,编码这些植物酶的基因还未鉴定。但是植物控制着一个生态系统的大部分能量,因此在一个污染的生态环境中选择种植能够降解 TNT 的植物在清除有机污染物方面有潜在的应用价值。

转基因植物技术能增强植物的清除有机污染物的能力。一个来自细菌依赖于 NADPH 的硝基还原酶当在烟草中表达时,能够增强 GTN 降解活性<sup>[19]</sup>。转基因幼苗比对照对 GTN 和 TNT 的耐性高约 10 倍,且降解速度比对照快 2 倍。这些硝基化合物如何被完全矿化还不清楚。然而,降解效率的增强增加了应用植物修复有毒硝基芳香族污染物的可行性。

PCBs 因在环境中的毒性、致癌性、广泛分布以及慢的降解作用,所以是最严重的污染物。一些植物和纯培养物能有效降解几个 PCBs 种类。例如,一种茄科植物的无菌培养物能十分有效地降解几个 PCB 同类物<sup>[20]</sup>。虽然目前对 PCBs 被植物降解的代谢基础还不清楚,但已知许多能增强 PCB 降解的细菌基因,所以在今后几年将会开展利用这些细菌基因有选择地进行遗传操作以清除 PCBs 污染的研究。

## 3 前景及展望

综上所述,研究植物修复环境污染有着广阔的前景,也表明了转基因技术在植物修复方面的潜在优势。相信随着对植物天然修复能力的进一步研究,可在更广泛的植物范围内进行遗传操作。植物虽然能够降解几种高毒难代谢的有机物,但还需更多的研究来确定有机污染物矿化作用中的限速步骤,一旦吸收、转运、运输等过程中的限速步骤被确定,转基因植物将会明显改善植物的天然修复能力。我们相信在不久的将来,随着对植物天然修复能力的深入研究,不仅能为人类带来明显的社会效益,同时也提高了生态效益和经济效益。

### 参考文献:

- [1] Meagher R B, Rugh C L, Kandasamy M K et al. Engineered phytoremediation of mercury pollution in soil and water using bacterial genes[A]. (In): Terry W, Bañuelos G, Berkeley. Phytoremediation of Contaminated Soil and Water[C]. California: Ann Arbor Press, Inc. 2000. 201 - 219.
- [2] Salt D E, Kramer U. Mechanisms of metal hyperaccumulation in plants [A]. (In): Raskin L, Ensley B D. Phytoremediation of Toxic Metals :

Using Plants to Clean – up the Environment[C]. New York: John Wiley and Sons, 1999. 231 – 246.

- [3] Heaton A C P, Rugh C L, Wang N – J, et al. Phytoremediation of mercury and methylmercury polluted soils using genetically engineered plants[J]. *J Soil Contam*, 1998, 7: 497 – 509.
- [4] Barker A J. Metal hyperaccumulator plants: a review of the biological resource for possible exploitation in the phytoremediation of metal – polluted soils[A]. (In): Terry N, Bañuelos G S. Boca Raton. Phytoremediation of Contaminated soil and Water[C]. Florida: CRC Press LLC, 1999. 85 – 107.
- [5] Krämer U, Cotter – Howells J D, Charnock J M et al. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel[J]. *Nature*, 1996, 379: 635 – 638.
- [6] Salt D E, Kato N, Krämer U, et al. The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and non – accumulator species of *Thlaspi*[A]. (In): Terry W, Bañuelos G, Barkeley. Phytoremediation of Contaminated Soil and Water[C]. California: Ann Arbor Press, Inc: 2000. 191 – 202.
- [7] Gueriot M L, Eide D. Zeroing in on zinc uptake in yeast and plants[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2: 244 – 249.
- [8] Cohen C K, Fox T C, Garvin D F, et al. The role of iron deficiency stress responses in stimulating heavy – metal transport in plants[J]. *plant Physiol*, 1998, 116: 1063 – 1072.
- [9] Pellet D M, Grunes D L, Kochian L V. Organic acid exudation as an aluminum – tolerance mechanism in maize (*Zea mays L.*)[J]. *Planta*, 1995, 196: 788 – 795.
- [10] Larsen P B, Degenhardt J, Tai C Y, et al. Aluminum – resistant Arabidopsis mutants that exhibit altered patterns of aluminum accumulation and organic acid release from roots[J]. *Plant Physiol*, 1998, 117: 9 – 18.
- [11] Chaney R L. Plants can utilize iron from Fe – N, N' – D1 – (2 – hydroxybenzoyl) – ethyleneediamine – N, N' – Diacetic acid, a ferric chelate with 10<sup>6</sup> greater formation constant than Fe – EDDHA[J]. *J Plant Nutrition*, 1998, 11: 1 033 – 1 050.
- [12] Robinson N J, Procter C M, Connolly E L, et al. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils[J]. *Nature*, 1999, 397: 694 – 697.
- [13] Zhu Y L, Pilon – Smits E A H, Jouanin L, et al. Overexpression of glutathione synthetase in India mustard enhances cadmium accumulation and tolerance[J]. *Plant Physiol*, 1999, 119: 73 – 79.
- [14] Vatamaniuk O K, Mari S, Lu Y P, et al. AtPCS1, a phytochelatin synthase from Arabidopsis: isolation and in vitro reconstitution[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 7 110 – 7 115.
- [15] Gordon M, Choe N, Duffy J, et al. Phytoremediation of trichloroethylene with hybrid poplars[J]. *Environ Health Perspect*, 1998, 106(suppl 4): 1 001 – 1 004.
- [16] Hughes J B, Shanks J, Vanderford M, et al. Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures[J]. *Environ Sci Tech*, 1997, 31: 266 – 271.
- [17] Goel A, Kumar G, Payne G F, et al. Plant cell biodegradation of a xenobiotic nitrate ester, nitroglycerin[J]. *Nat Biotechnol*, 1997, 15: 174 – 177.
- [18] Bhadra R, Wayment D G, Hughes J B, et al. Confirmation of conjugation processes during TNT metabolism by axenic plant roots[J]. *Environ Sci Technol*, 1999, 33: 446 – 452.
- [19] French C E, Rosser S J, Davies G J, et al. Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing pentaerythriol tetranitrate reductase [J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17: 491 – 494.
- [20] Mackova M, Macek T, Ocenaskova J, et al. Biodegradation of polychlorinated biphenyls by plant cells[J]. *Int Biodeterioration Biodegradation*, 1997, 39: 317 – 324.