植物营养与肥料学报 2010,16(5):1264-1275
Plant Nutrition and Fertilizer Science

植物砷的生理和分子生物学研究进展
—从土壤、根际到植物吸收、运输及耐性

杨晓娟,李春俭*
(中国农业大学植物营养系,北京 100193)

摘要:砷既是抗癌药物,也是致癌物质。砷不但会对植物造成毒害,并且能够通过食物链进入人体和动物体,对其造成伤害。近年来包括我国在内的世界上许多国家发生的砷中毒事件,引起了公众的极大关注,促使各国科学家致力于砷从环境进入植物体的过程和机理研究。本文从土壤砷、根际砷、植物对砷的吸收和运输,以及植物耐砷机理和微生物在植物抗砷过程中的作用这五个方面,概括了砷从土壤到植物根际并进入植物体的过程,植物抗砷的生理分子机制以及微生物与植物抗砷的研究进展。并对将植物耐砷机理运用到作物上,以及利用砷超积累植物清除环境中的砷做了展望。

关键词:砷;根际;吸收运输;超积累植物;微生物
中图分类号:Q945.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008-505X(2010)05-1264-12

Progress in studying physiology and molecular biology of arsenic in plants —Uptake, translocation and tolerance in the soil-rhizosphere-plant system

YANG Xiao-juan, LI Chun-jian*
(*Department of Plant Nutrition, China Agricultural University, Beijing 100193, China*)

Abstract: Arsenic can cause cancer in humans, but also can be used as an anti-cancer medicine. Besides the harmful effects of arsenic to plants, arsenic can be taken up and accumulated in plants and thus enters animal and human bodies through food chain. The episodes of arsenic contamination and toxicity happened in India, Bangladesh and China brought scientists to study the mechanisms of arsenic absorption, translocation in plants. This article reviews the recent progresses on behaviors of arsenic in soil, rhizosphere and plant, especially focuses on physiological and molecular processes of arsenic acquisition, translocation in plants, as well as on the tolerant mechanisms of microbial organisms and plants to arsenic. The possible applications of arsenic tolerant mechanisms in crops and in cleaning of the contaminated environment are discussed.

Key words: arsenic; rhizosphere; uptake and translocation; hyperaccumulator; microbe

砷的毒性和致癌、致畸、致突变效应使它排在了美国环境保护署所列的有害物质排名的第一位[1]。砷在地壳中的丰度排在第 20 位,在海水中排在第 14 位,在人体中的含量排在第 12 位[2]。印度、孟加拉、智利、阿根廷等 20 多个国家都报道过砷中毒事件[2]。中国地方性砷中毒分布调查协作组 2003 年的调查结果表明[3]:饮水型地方性砷中毒分布于 8 省市,40 个县旗市,受影响人口达 2343238 人,其中高砷(饮水砷 >50 μg/L)暴露人口 522566 人,查出砷中毒者 7821 人。内蒙、山西是我国饮水型地方性砷中毒的高发区。燃煤型地方性砷中毒流行于贵州和陕西的 8 个县市,其中室内生活用煤导致室内空气砷污染(>100 mg/kg)和粮食砷污染的受影响人口 333905 人,高砷暴露人口 48438 人,查出砷中毒者 2402 人。贵州省是我国乃至世界典型生活燃煤型地方性砷中毒病区。

收稿日期:2009-06-30　　**接受日期**:2010-03-18
基金项目:国家自然科学基金创新研究群体科学基金(NSFC30821003)资助。
作者简介:杨晓娟(1980—),女,陕西岐山人,博士研究生,主要从事植物营养生理方面的研究。
Tel:010-62733616, E-mail:duyangxiaojuan@gmail.com。　　* 通讯作者 E-mail:lichj@cau.edu.cn

砷中毒事件促使人们对环境中砷的分布、行为、污染的生态效应,耐砷植物与砷超积累植物对砷的吸收、运输、代谢,及其对砷的抗性机理和砷污染土壤修复等方面展开研究。我国在土壤砷污染的研究工作相对国外起步较晚,始于上世纪 70 年代末期[4],但在砷超积累植物以及砷污染土壤的植物修复研究始终走在国际前列[5]。本文就砷从土壤到植物根际并进入植物的过程,植物抗砷的生理分子机制以及微生物与植物抗砷性的研究进展进行概述和讨论。

1　土壤中的砷

砷在地壳中的含量为 4.01×10^{16} kg[6],Nriagu 和 Pacyna[7]的计算显示,全球每年向土壤中输入砷的总量为 9.4×10^{7} kg,其中 41% 来源于消费商品,23% 来源于煤灰,14% 来源于大气沉降,10% 来源于尾砂,7% 来源于冶炼,3% 来源于工业,剩余的 2% 来源于其它更小的污染源。世界土壤中砷浓度的平均值为 6 mg/kg,我国为 11.2 mg/kg[8],高于世界平均水平。我国表层土壤中的砷浓度分布呈现出从西南向东北由高到低的变化趋势,其中四川盆地土壤中的砷浓度与东部相似,这个变化趋势大致与中国地形变化一致,即海拔较高的地区砷浓度也相对较高。在局部区域同样发现土壤砷浓度随着海拔下降而降低的变化[9]。未经污染的土壤中砷浓度为 1 ~ 50 mg/kg[10]。影响土壤中砷浓度的因素包括成土母质、人类活动、气候、土壤有机质和无机物的组成,以及氧化还原电势(Eh)。其中最主要的因素是成土母质[2],源于花岗岩的砂土含砷量较低,而源于沉积岩的冲积土和有机土的含砷量较高。在酸性土壤中,砷主要以铁砷和铝砷的形式存在,在碱性土壤中则主要以钙砷形式存在[11]。

砷在土壤中有以下存在形式: 难溶性砷酸盐,包括在其他金属难溶性盐的沉积物中,吸附在土壤粘粒和其他金属难溶性盐的沉积界面上,存在于土壤颗粒的晶体结构中,或溶于土壤溶液中[4]。用砷的总量来评价它的环境效应是不准确的[12],目前国际上通常认为,不是砷的总量,而是砷的化学形态决定其毒性[13]。目前对土壤砷的化学形态研究多采用分级提取法。Tessier[14] 1979 年建议用分级浸提方法来研究金属在土壤中的有效性,该方法是基于金属元素在各个地球化学相中有不同化学反应活性和生物有效性这一特性,缺点是没有考虑它对金属元素的非选择性和在操作过程中各金属元素在不同地球化学相间的重新分配[15]。尽管如此,它不失为理解土壤中金属元素生物有效性和相对移动性的好方法。在研究土壤中砷形态的时候,通常将 Tessier 的方法加以改进。Turpeinen 等人 1999 年[16]用改进的 Tessier 分级提取法,将砷的形态定义为可交换态、易还原金属氧化物结合态、有机物结合态、铁铝氧化物结合态以及残渣态。Wenzel 等人 2001 年[17]将土壤中砷分为非特异性结合态、特异性结合态、无定型氢氧化物结合态、晶体氢氧化物结合态和残渣态。这些不同形态砷的生物有效性是逐渐降低的。

砷的化学形态决定了它的化学和物理性质。土壤中的砷以无机砷为主,兼有有机砷。在氧化条件下主要以 As Ⅴ为主,被粘土、铁锰氧化物及有机物强烈吸附,在还原条件下主要以 As Ⅲ为主。在土壤中也能检测到一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)。微生物在土壤砷的形态转化中具有很大作用,可以将无机砷生物甲基化,同时也可以将有机砷转化成为无机砷。土壤中砷损失的主要途径是 As Ⅴ通过一系列的还原和甲基化的反应,形成一甲基砷酸、二甲基砷酸、三甲基砷酸(TMAO)以及砷化氢等释放到大气中。这些物质在大气中主要附着在颗粒物上,经过氧化和去甲基化的反应最终以无机的 As Ⅴ形式随雨水或大气沉降返回到土壤中。甲烷杆菌、杆状菌、假单胞菌、链球菌、葡萄球菌、曲霉菌和青霉菌都有可能在砷形态变化过程中起作用[18]。

2　植物根际中的砷

根际是指受植物根系生长影响,在物理、化学和生物学特性上不同于原土体的根表土壤微域。Hinsinger 等[19]指出,根际是土壤生物地球化学研究的前沿领域。植物根系的吸收、呼吸和分泌作用改变了根际土壤的生物地球化学性质。养分元素、有毒元素和污染物的浓度、土壤 pH、Eh 以及气体分压都会影响到土壤固液界面的化学物理反应。因此,植物根际中砷的化学形态与土体中的砷形态不同。植物影响根际土壤中的砷,从而也影响着砷的地球化学循环。

目前,关于植物根际砷的研究已有一些报道。Fitz 和 Wenzel[20]根据已有的植物根际研究结果,推测了砷在植物根际中的可能变化。根际 pH 值升高会造成 As Ⅴ的可溶性增加,反之则会降低 As Ⅴ的可溶性。在砷污染的土壤上施用 NO_3^- 会造成根际 pH

值升高,从而使 AsⅤ的可溶性增加。共生固氮导致植物根际酸化,会使 AsⅤ固定在土壤中。已有的研究证明,根系分泌物能够活化土壤中的磷。由于砷和磷在元素化学周期表中位于同一主族,地球化学行为十分相似,因此推测植物根系的碳分泌物在根际砷的活化过程中也起到了很重要的作用。如砷超积累植物蜈蚣草(*Pteris vittata*)根际可溶性碳的增加提高了土壤中砷的生物有效性[21]。Eh 也是影响土壤中砷行为的重要因素。对陆生植物来说,由于根系的呼吸作用使根际 Eh 下降,可能导致 AsⅤ向 AsⅢ转化,从而提高砷在土壤中的活性和毒性。但对水生植物来说,由于体内有通气组织,因此在根系周围会形成一个富氧环境,从而将有害的 AsⅢ转化固定为 AsⅤ,减轻对植物的危害。但是用砷污染的水灌溉水稻,其根际土壤溶液中主要的砷形态仍是 AsⅢ,其它的 AsⅤ、单甲基砷酸(MMA)、二甲基砷酸(DMA)也有相当数量,这可能是由于水稻根际的氧不足以将 AsⅢ氧化为 AsⅤ[22]。AsⅤ对水稻根系表面的铁胶膜有很高的亲和力,与三价铁反应形成难溶性铁砷化合物,可以降低砷对植物的毒害[23]。

Fitz 等[24]2003 年对砷超积累植物蜈蚣草的根际化学性质进行了较为详细的研究,发现根际溶液的 pH 值与土体相比没有明显变化。Eh 低于土体,但降低的程度不足以使砷发生还原反应,因为根际和土体溶液中的砷都是以无机 AsⅤ的形式存在,没有检测到 AsⅢ和有机态砷,说明没有微生物将无机砷转化为有机砷的过程,也没有将 AsⅤ还原为 AsⅢ的过程。用 $(NH_4)_2SO_4$ 提取的根际土壤中易移动的砷浓度要低于土体中砷的浓度,这可能是由于植物吸收的结果。2006 年 Silva 等[25]用改进的 Tessier 分级浸提方法研究表明,蜈蚣草根际土壤中各种形态砷(非特异性结合态、特异性结合态、无定型氢氧化物结合态、晶体氢氧化物结合态和残渣态)的浓度都有所降低,但降低幅度最大的并不是最易被植物利用的非特异性结合态,而是砷含量最高的无定型氢氧化结合态。另外,根际水溶态砷约为土体中的 40%,这与 Fitz 等人的结果比较一致,即蜈蚣草根际的砷出现了耗竭现象。与蜈蚣草相比,砷在砷非超积累植物波斯顿蕨(*Nephrolepis exaltata*)的根际也有类似反应,只是变化幅度相对较小。

3 植物对砷的吸收和运输

3.1 植物对砷的吸收

植物体中砷的浓度取决于植物的种类和它所处的生长环境,浓度变化范围很大,陆生植物为 0.01 ~ 5 mg/kg[11],水生植物为 1 ~ 36 mg/kg[26]。

在植物体内,砷主要以无机态存在[27]。AsⅤ通过磷的高亲和力转运系统进入细胞[28]。用放射性同位素标记砷,研究其吸收动力学,发现砷超积累植物蜈蚣草的吸收速率高于非超积累植物,而且米氏常数(km)较小,并且发现磷明显抑制植物对砷的吸收,说明蜈蚣草对磷和砷的吸收是共用同一个系统[29]。在其它高等植物、苔藓、地衣、真菌和细菌中也证明了这一点[30]。砷和磷的吸收会产生竞争。当砷供应量为 83 μM 时,将供磷量从 20 μM 增加到 100 μM,蜈蚣草根系和地上部砷的浓度可分别降低 76% 和 46%,砷供应量为 416 μM 时,将供磷量从 20 μM 增加到 500 μM,其根系和地上部砷的浓度分别降低 73% 和 41%。相反,在供磷 20 μM 时,将砷浓度从 83 μM 增加到 416 μM,蜈蚣草根系中的磷减少 60%,地上部的磷没有显著变化[31]。但也有相反的报道,添加低浓度磷(400 mg/kg 以下)对蜈蚣草根系和地上部总砷吸收量和浓度都没有显著影响,但当磷浓度高于 400 mg/kg 时,地上部和根系总砷吸收量和浓度都有显著提高[32]。营养液培试验中,低浓度的砷(2.5 μM)会促进蜈蚣草对磷的吸收,根中磷的浓度从 0.91 增加到 5.76 g/kg,地上部从 2.33 增加到 5.19 g/kg[33],吸收更多的磷可能会增加植物对砷的抗性。

甘油和亚锑酸盐都显著抑制水稻对亚砷酸的吸收,已证明甘油和亚锑酸盐都是通过水通道进入酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)[34]。有一类水通道蛋白(NIPs)能运输 AsⅢ,而在水稻中,AsⅢ共用硅的吸收和排出途径[35]。单甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)也能进入植物体,但具体运输途径不清楚[22]。给蜈蚣草分别供应无机砷(AsⅤ、AsⅢ)和有机砷(MMA、DMA)时发现,这些不同形态的砷都能被植物吸收。

3.2 植物体内砷的运输

关于砷从根系向地上部的运输形态一直存在争议。当供给无机砷时,植物木质部汁液中主要是 AsⅤ,当供给有机砷时,其木质部汁液中砷的形态是所供给的形态[36]。芥菜(*Brassica juncea*)和向日葵(*Helianthus annuus*)木质部汁液中只有游离的 AsⅢ和 AsⅤ,没有螯合态砷[37,38],所以 Raab 等推测[38],砷从根系向地上部转运的主要形态是无机的 AsⅤ和 AsⅢ,而非螯合态砷(As-PC)。利用 X 射线和高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技

术研究发现,在砷超积累植物蜈蚣草中,从根系向地上部运输的砷主要是 AsⅤ,而砷在地上部主要以 AsⅢ形式储存[39,40,41,42]。但也有相反报道,由于只在蜈蚣草的根部检测到了砷酸还原酶,而在地上部砷的储存形态是 AsⅢ,所以推测从根系向地上部运输的砷主要是 AsⅢ[43,44,45]。近来利用 X 射线技术研究整体植株,为砷主要以 AsⅤ形式从植物根系向地上部运输提供了重要依据,因为发现 AsⅤ分布在叶脉中,AsⅢ的复合物则分布在叶脉周围[39]。

4　植物的耐砷机理

耐砷植物可以分为两类: 非超积累耐砷植物(表 1)和超积累耐砷植物(表 2)。非超积累耐砷植物是指通过抑制磷高亲和力吸收系统来降低砷的吸收速率,从而能在砷污染土壤上生长的植物[46]。砷超积累植物是指生物富集因子(地上部砷浓度与土壤中砷浓度的比值)大于 1,并且地上部砷浓度高于 1000 mg/kg 的陆生植物[47]。

表 1　耐砷植物

Table 1　Arsenic tolerant plants

种类名称 Varieties	中文名 Chinese name	参考文献 References
Andropogon. scoparius	小须芒草	[48]
Agrostis. castellana	旱地翦股颖	[49]
Agrostis. delicatula	优美曲壳藻	[49]
Agrostis. capillaris	茵陈蒿	[50]
Deschampsia. cespitosa	发草	[50]
Holcus. lanatus	白毛茅	[51]
Silene. vulgaris	欧洲丁香	[52]
Plantago. lanceolata	长叶车前	[53]
Calluna. vulgaris	帚石楠	[54]

表 2　砷超积累植物

Table 2　Arsenic hyper-accumulating plants

种类名称 Varieties	中文名 Chinese name	参考文献 References
Pteris. vittata	蜈蚣草	[55]
Pteris. cretica	大叶井口边草	[56]
Pteris. longifolia	长叶甘草蕨	[56]
Pteris. umbrosa		[56]
Pityrogramma. calomelanos	粉叶蕨	[57]
Pteris. biaurita	狭眼凤尾蕨	[58]
Pteris. quadriaurita Retz	金钗凤尾蕨	[58]
Pteris. ryukyuensis. Tagawa	琉球凤尾蕨	[58]

4.1　降低吸收速率

磷和砷都能通过磷高亲和力转运系统进入植物体。由于高亲和力磷转运系统受缺磷诱导,所以砷的吸收高低依赖于环境中磷的有效性[59]。非超积累耐砷植物如白毛茅[46]和帚石楠[60]可以通过抑制高亲和力磷吸收系统来降低对砷的吸收,达到在砷毒害条件下生存的目的,而非耐砷植物则没有这一机制[61]。砷吸收速率降低是非超积累植物耐砷的重要机制,而砷吸收速率降低和耐砷这两个特性是分离的[62],并且由一个显性基因控制[63]。

4.2　超积累砷

1997 年,陈同斌提出存在有砷超积累植物的可能性,并开始进行砷超积累植物的调查和筛选,1999 年在国内找到了砷超积累植物蜈蚣草,并于 2000 年 10 月在杭州举办的“土壤修复国际会议”上介绍了这一发现[5]。1998 年,Komar 在佛罗里达也发现了砷超积累植物蜈蚣草,直到 2001 年,佛罗里达大学的 Ma 在《Nature》[55]报道蕨类植物蜈蚣草具有超级富集砷的能力时,这才引起人们的重视。几乎在相同时间,泰国的 Visoottiviseth 也在本国发现了蜈蚣草[57]。

在砷污染土壤上(全砷含量 18 ～ 1600 mg/kg)生长的蜈蚣草,其地上部砷含量可达 7500 mg/kg。室内试验中,如果添加 1500 mg/kg 砷,蜈蚣草地上部的砷浓度可达 22630 mg/kg[55],其生物富集因子大于 10。蜈蚣草耐砷的临界浓度在 7000 ～ 10000 mg/kg 之间[64,65]。

在控制试验和野外试验中都发现蜈蚣草地上部可以积累大量砷,而根系只有少量砷累积[65]。在盆栽试验中,蜈蚣草地上部砷的积累量可达 2500 mg/kg,而且在土壤中砷浓度为 500 mg/kg 时也没有出现砷中毒症状。相比较,非超积累植物蕨菜(*Pteris tremula*)在地上部砷积累量低于 100 mg/kg,并且在土壤中砷浓度大于 25 mg/kg 时就已显示出了砷中毒症状。进一步研究发现,蜈蚣草的砷吸收速率是蕨菜的 2.2 倍,可将 76% 的砷转运到地上部,而蕨菜只能将 9% 所吸收的砷转运到地上部。蜈蚣草超积累砷的原因在于有效的解毒机制[66]。袋衣(*Hypogymnia physodes*)是一种常用的监视环境中重金属浓度的指示植物,它在高砷环境中也能生长,其体内砷的积累量能达到 2300 mg/kg。研究发现,这种植物不但能吸收砷,还能排出 AsⅢ,并且将吸收的无机砷甲基化。但是随着外界砷浓度的增加,甲基化的比例在降低。所以,袋衣能在高砷环境

中生长的原因是它能够排砷和将毒性较大的无机砷甲基化为毒性较小的有机砷[13]。

4.3 体内砷还原

植物中含有砷酸还原酶，能将 As V 还原为 As Ⅲ[43,67]。一些非超积累耐砷植物具有很高的砷酸还原酶活性，能将所吸收的95%以上的 As V 还原为 As Ⅲ[37,68]。As V 还原为 As Ⅲ是植物体中钝化砷的前提，因为只有 As Ⅲ可以与小分子谷胱甘肽、植物螯合素等有机物结合[44]。要利用砷酸还原酶解毒，必须同时有充足的 As Ⅲ配体，否则，由于 As Ⅲ比 As V 的毒性更大，植物会受到更严重的伤害。砷酸还原酶将 As V 还原为 As Ⅲ，既减轻了对植物的毒害，同时也减少了砷和磷的竞争，能让植物在砷污染的土壤上正常吸收磷，进行正常的生理代谢[68]。

砷超积累植物蜈蚣草中的砷浓度可达到 23000 mg/kg，但在不同部位的存在形态不同。在地上部70%以上的砷是 As Ⅲ[31,69]，在根部 90% 的砷是 As V。当供给砷的形态是 As Ⅲ时，收获后地上部94%的砷是 As Ⅲ，根系中70%的砷是 As Ⅲ；当供砷形态是 As V 时，收获后地上部仍有 93% 的砷是 As Ⅲ，根系有 34% 的砷是 As Ⅲ[70]。这表明蜈蚣草还原砷的能力很强，砷酸还原酶负责将 As V 还原为 As Ⅲ。已经证明在蜈蚣草中，As V 还原成 As Ⅲ主要发生在地上部[70]。

在拟南芥（*AtAsr*/*AtACR2*）[68]、白毛茅（*HlAsr*）[44]和蜈蚣草（*PvACR2*）[67]中都已经获得了砷酸还原酶基因。大多砷酸还原酶具有酪氨酸磷酸酶（CDC25 Tyrosine phosphatease）活性，并且含有保守的 HCX_5R 结构[44]。

运用数据库，通过与酵母砷酸还原酶（*ScACR2*）和大肠杆菌砷酸还原酶（*ArsC*）基因序列比对，找到了拟南芥第五染色体上的砷酸还原酶基因 *ACR2*，利用 RNA 干扰技术获得拟南芥砷酸还原酶的突变体，在 100 μM 砷条件下，地上部积累的砷是野生型积累量的 10 ～ 16 倍，生物量没有差别。原因可能是 As V 不能被有效地还原为 As Ⅲ，从而无法在根部钝化，而 As V 本身也很容易运输到地上部。但当砷浓度增加到 150 μM 时，砷酸还原酶基因沉默的突变体与野生型相比尤为敏感，可能是高浓度砷影响了磷的代谢[68]。但是也有相反的报道，与野生型植株相比，低砷条件下（<100 μM）拟南芥砷酸还原酶突变体 *asr* 对砷敏感。超表达 *AtASR* 后，植株提高了对砷的抗性，可能是由于 As V 还原为 As Ⅲ后经与小分子谷胱甘肽、植物螯合素等结合，达到了解毒的目的；但在高浓度条件下（>100 μM）却表现出砷敏感性，其原因可能是还原的 As Ⅲ不能被有效钝化，而使植物中毒[44]。尽管这两个试验结果不同，但有一点是一样的，即在高浓度砷条件下，组成型超表达或者抑制砷酸还原酶都会使植株对砷更加敏感。

4.4 金属螯合物

氨基酸、有机酸、植物螯合素和金属硫蛋白与金属离子的螯合是植物解除重金属毒害的重要机制[71]。砷胁迫条件下，非超积累耐砷植物中的硫醇类植物螯合素与砷的比值要远大于非耐砷植物[72,73]，用植物螯合素合成抑制剂丁硫氨酸亚砜胺 BSO 处理后，非超积累耐砷和非耐砷植物都表现出对砷的敏感性[72,73]，拟南芥的植物螯合素合成突变体 *cad*1 -3 表现出了对砷的超敏感性[74]。非超积累耐砷植物白毛茅中能合成大量的植物螯合素。近来的研究指出，在组成型和适应型非超积累耐砷植物中，植物螯合素具有重要作用。用图位克隆方法，在植物螯合素缺失的拟南芥突变体 *cad*1 中克隆到了植物螯合素合成酶基因[74]，将其转入芥菜提高了对砷的抗性，但没有增加对砷的吸收[75]。在印度蛇木（*Rauvolfia serpentina*）[76]、白毛茅、大叶井口边草（*Pteris cretica*）[77]、向日葵[38]和芥菜[37,78]中都存在有 As Ⅲ和谷胱甘肽以及植物螯合素的复合物。Raab 等[38]2005 年详细研究了白毛草中的砷复合物，发现有 14 种不同的 As Ⅲ复合物，并且第一次鉴定出单甲基砷螯合素（monomethylarsonic -PC_2）的存在。在白毛草中，这些螯合物主要是以 AS Ⅲ-PC_3 形式存在，但只占全部砷的 13%[77]。

蜈蚣草地上部植物螯合素的合成量随着砷供应的增加而增加[79]。但大部分砷仍是以无机离子形态存在，说明在砷超积累植物中，植物螯合素的作用是有限的[39]。从蜈蚣草中已经克隆到合成植物螯合素的 cDNA，当它在酵母中表达时，具有抗镉毒害的能力[80]，对砷的反应还需要进一步研究。在大叶井口边草（*Pteris cretica*）中，砷的复合物形态主要是 GS -AS Ⅲ-PC_2，占全砷含量的 1%，其余 99% 的砷以无机游离砷的形式存在[77]。

在拟南芥中超表达植物螯合素合成酶基因 *AtPCS*1能够增加拟南芥植株的抗砷能力。在供砷 250 μM 和 300 μM 的条件下，转基因植株的生物量是野生型的 20 ～ 100 倍[81]。进一步研究表明，在拟南芥细胞质中超表达 *AtPCS*1 能增加其对砷的抗性，但是在叶绿体中超表达该基因则会增加其对砷的敏感性[82]。尽管植物螯合素合成酶的超表达能

合成更多的植物螯合素,但由于消耗了很多植物螯合素底物如谷胱甘肽[83],会加剧其它种类胁迫,如氧化胁迫[84]。针对这一情况,同时将植物螯合素合成过程中的其它酶超表达,如谷氨酰半胱氨酸合成酶,使植物体谷氨酰半胱氨酸、谷胱甘肽和植物螯合素含量增加 3 ～ 20 倍,既能提高植物的抗砷性,又能减缓由于底物消耗所造成的胁迫[85,86]。

筛选具有四个加强子的 T-DNA 插入的拟南芥激活标签数据库,得到一个抗砷突变体,虽然是单拷贝的 T-DNA 插入,但具有两个砷响应位点,所对应的突变体分别命名为 *ars*4 和 *ars*5。*Ars*4 是 T-DNA 插入到基因 *PHYA*,使其失活所致; 而 *ars*5 突变位点位于第五染色体上,具体基因未知。这两个突变体中的植物螯合素水平和砷吸收量与野生型没有差别,但其半光氨酸,γ-谷氨酰半胱氨酸和谷胱甘肽含量较野生型有显著增加,增加量高达 80%,这些物质能有效解除砷的毒性[87]。由强组成型肌动蛋白启动子(ACT2p)驱动,将大肠杆菌编码 γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶的基因在拟南芥中表达,增强了拟南芥的抗砷性[85,88]。这些研究说明,提高植物体内有机酸和植物螯合素的含量都会提高植物对砷的抗性,也为通过基因工程手段增加植物抗砷性提供了依据。

4.5　矿质元素对吸收砷的影响

改善植物的磷营养状况也会提高耐砷性[89]。植物地上部磷/砷的摩尔浓度比值可以作为砷毒害的一个指标,蜈蚣草的临界值为 1[90]。增加土壤中的砷(100 mg/kg)会降低磷砷比,地上部从 4600 降到 <5,根系从 4600 降到 <30,并且发现当地上部磷砷比接近 3 时,例如在金钗凤尾蕨(*Pteris quadriaurita*)中为 2.7,琉球凤尾蕨(*Pteris ryukyuensis*)中为 2.9 时,能富集最多的砷[91]。不同营养元素会影响植物的耐砷性,NO_3^- 和 $CaCO_3$ 会促进植物吸收更多的砷,而 NH_4^+ 和 Cl^- 则会减少对砷的吸收,主要的原因是供 NO_3^- 和 $CaCO_3$ 提高根际 pH,使土壤中砷的有效性更高,而 NH_4^+ 降低根际 pH,降低砷的有效性,Cl^- 抑制植物的生长,从而减少对砷的富集[92]。

拟南芥编码高亲和力磷转运蛋白基因 *PHT*1∶1 和 *PHT*1∶4 的 T-DNA 插入突变体和两者的双突变体都具有抗砷性,将上述三种突变体和野生型植株培养在含有 175 μM 砷的 1/2 Hoagland 培养基上 14 天后,突变体地上部生物量分别是野生型的 1.8、1.1 和 5.1 倍[93]。PHF1 蛋白位于内质网上,其功能是促进磷转运蛋白移动到质膜上,其对应的拟南芥突变体 *phf*1 也具有抗砷性[94]。*Asr*1 是目前为止报道的从 EMS 诱导的拟南芥突变体库中筛选出的第一个也是唯一一个特异抗砷突变体,但基因的具体功能尚不清楚。*ars*1 植株中砷的浓度与野生型相同,说明它的抗砷机制并不是排出机制,合成植物螯合素的量与野生型也没有区别,但 *ars*1 能吸收 2 倍于野生型的磷,所以 *ars*1 的解毒机理可能是体内大量的磷占据了砷的作用位点,使植株比较抗砷[95]。

4.6　砷的排出和区隔化

植物吸收重金属后,从根部将其排出是其解毒的有效方法之一。非超积累耐砷植物可将吸收的 50% ～ 85% 的砷从根部以 AsⅢ的形式排到根际中,但在砷超积累植物中没有发现这一现象[96]。一些植物将大部分吸收的砷保留在根中,少量砷进入地上部。如番茄将 85% 的砷限制在根部,地上部有 15%,果实中仅占有 1%[97]。粮食和蔬菜中规定的砷临界浓度是 10 mg/kg[98]。给番茄提供无机砷(1,2,5 mg/L),其果实中砷的浓度变化为 0 到 4.8 mg/kg; 但当提供有机砷时(1,2,5 mg/L),果实中砷的浓度从 0 到 26.3 mg/kg,接近或超过了临界值[97]。生长两周的芥菜在 250 μmol/L 的 AsⅤ中生长 5 天后,根中砷的浓度达到 7608 nmol/g, 而地上部中只有 204 nmol/g[37]; 水稻能将 90% 的砷积累在根部,并且随着外界砷浓度的增加,根部积累的砷的比例也会增加[99]。

Lombi 等[57]通过 EDXA 研究蜈蚣草羽叶中砷的微区分布,发现砷主要分布在上下表皮细胞。但陈同斌等采用 SRXRF 方法研究发现[100],蜈蚣草近轴叶肉组织(栅栏组织)中的砷浓度最高,近轴面表皮砷浓度高于远轴面表皮,但都低于相邻的叶肉组织。利用配备 EDXA 的环境扫描电子显微镜(ESEM)研究发现,在加砷处理中,蜈蚣草羽叶毛状体的砷含量分别是表皮细胞和叶肉细胞的 2.4 倍和 3.9 倍,在同一毛状体中,帽细胞中砷含量较低,而节细胞和基细胞中砷含量较高[101]。一些重金属超累积植物和耐性植物的叶片表皮细胞对有毒元素有区隔化作用,但在镉、锌的超积累植物阿拉伯菜(*Arabidopsis halleri*)中,叶肉细胞中镉、锌含量高于表皮[102],所以叶表皮区隔化并不是所有超累积植物解毒的普遍机理[100]。

在不加砷时,蜈蚣草吸收的少量砷主要被固定在细胞壁上; 在加砷时,羽叶中 78% 的砷积累在胞液中[103]。詹宝等人的研究表明[104],蜈蚣草原生质体的抗砷性要远高于烟草质体。砷运输到地上部

后,储存在液泡中才能达到解毒的目的。砷在非超积累植物芥菜地上部和根系中大多以复合物 AsⅢ-tris-thiolate 的形式存在[37]。在酵母中,AsⅢ有机物(AsⅢ-GS_3)被 ABC 型转运体转运到液泡中[105]。在拟南芥体外试验中证实了 AsⅢ谷胱甘肽复合物能够进入液泡[44],并且推测也是通过类似于酵母的 ABC 型转运体来实现的。但是,关于 AsⅢ-GS_3 和 As-PC 的体内试验结果未见报道,无机砷被固定于液泡中的过程也不清楚[106]。最近的研究表明,超积累植物和耐砷植物液泡内含有大量游离的 AsⅢ[67,77,39,41],细胞质中的含量较低[69],这也是植物解除砷毒害的机理之一。植物中也可能存在 AsⅢ转运体,因为在细菌中就存在着 AsⅢ的排出泵[106]。

4.7 抗氧化胁迫

砷会加剧细胞中的氧化胁迫[107]。砷胁迫时植物产生活性氧,造成脂膜过氧化[72]。这可能发生在 AsⅤ还原为 AsⅢ的过程中。在这个过程中会消耗抗氧化物,植物体外试验已证实,非酶谷胱甘肽能将 AsⅤ还原为 AsⅢ[108]。谷胱甘肽不仅是抗氧化剂,也是植物在砷胁迫时大量合成植物螯合素的前体物质。因此,大量谷胱甘肽用于合成植物螯合物,作为抗氧化剂的谷胱甘肽的数量就会骤减,活性氧不能被有效清除而对植物产生危害。在植物中,AsⅤ被还原成 AsⅢ后,还可能甲基化,这是一个还原过程,会造成进一步氧化胁迫[109]。

土壤中砷浓度增加时,蜈蚣草体内的非酶抗氧化剂谷胱甘肽、酸溶性硫醇以及酶类抗氧化剂 SOD、抗坏血酸超氧化物和愈创木酚过氧化物酶含量都升高[110]。营养液培养试验中,在砷浓度为 133 μM 时,蜈蚣草的叶绿素和类胡萝卜素含量都高于非砷超积累植物银脉凤尾蕨(*Pteris ensiformis*),其过氧化氢(H_2O_2)和硫代巴比妥酸反应物(Triobarbituric acid reactive substacnces,TBARs)的含量则低于非砷超积累植物。抗坏血酸和谷胱甘肽的含量高说明蜈蚣草所受到的氧胁迫要轻于银脉凤尾蕨,可能源于其体内的抗氧化剂含量较高[84]。谷氧还蛋白属于硫氧还蛋白超家族,广泛分布于各种生物体内。作为一种巯基转移酶,它能够催化巯基、二硫键交换反应或者还原谷胱甘肽二硫化物,以维持胞内的氧化还原态势。从蜈蚣草中分离出了编码谷氧还蛋白的基因 *PvGrx5*。将 *PvGrx5* 转入大肠杆菌中,其AsⅢ的浓度是对照的 33%,并且表现出对砷的抗性[1]。但是 *PvGrx5* 基因的抗砷机制和它的化学作用并没有关系,*PvGrx5* 基因的抗砷机制可能是通过和 *glpF* 基因作用来调控水通道,从而控制体内的 AsⅢ[1]。

5 微生物和植物抗砷性

自然界中某些微生物能够长期生存在砷含量较高的环境中,有些原核生物包括真细菌(Bacteria)和古细菌(Archaea)甚至能够利用砷的氧化还原价态的转化来获得生存的能量。砷酸盐异化还原菌(Dissimilatory arsenate-respiring prokaryote, DARP)可以将 As(Ⅴ)还原为 As(Ⅲ),化能自养亚砷酸盐氧化菌(Chemoautotrophic Arsenite Oxidizer, CAO)和异养亚砷酸盐氧化菌(Heterotrophic arsenite oxidizer, HAO)可以将 As(Ⅲ)氧化为 As(Ⅴ)[111]。从蜈蚣草地上部分离出一种蛋白菌 AsRB1,这种菌对 AsⅢ、AsⅤ以及锑都表现出抗性,并且能将 AsⅤ还原为 AsⅢ[112]。

接种菌根真菌 *Glomus mosseae* 和 *Glomus intraradices* 能改善蜈蚣草在砷污染土壤上的生长[113,114]。在土培试验中,施用 100 mg/kg 砷时,接种 AM 真菌会增加蜈蚣草地上部的砷浓度和含量、整株吸砷量和植物生物量[115]。接种 AM 真菌还能提高蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)的抗砷性。在砷浓度为 200 mg/kg 时,接种 AM 真菌后,蒺藜苜蓿生物量是不接种时的 5 倍。进一步研究发现,接种后,蒺藜苜蓿地上部砷浓度是不接种植株的 1/2,而磷浓度是其 3 倍。所以 AM 真菌可以帮助植物通过改善植物体的磷营养提高植株的抗砷性[116]。也有研究发现,耐砷的帚石楠和其共生的杜鹃花类菌根真菌子囊菌(*Hymenoscyphus ericae*)共同进化出了一套吸收磷而排出砷的耐砷机理[54]。

6 展望

研究非超积累耐砷植物的目的是了解植物的耐砷机制,并期望通过基因工程技术,把野生植物耐砷机理运用到农作物上,使其能在砷过量的环境中正常生长。水稻是重要的粮食作物之一,污灌和土壤污染都会造成水稻籽粒中的砷浓度增加,危害人类健康。孟加拉国水稻土中的高水平砷造成了水稻籽粒中砷浓度超过 2 mg/kg[117]。在我国郴州,用砷污染的地下水灌溉水稻,也导致了水稻籽粒中砷浓度高达 7.5 mg/kg[118]。目前在水稻上已经定位出五个与砷积累相关位点,染色体 2,3,8 分别有 1 个,染色体 6 上有 2 个,但具体基因尚不清楚[119,120]。除了研究水稻自身的砷相关基因以外,还有以下措施

可能运用于农作物上: (1)把金属螯合素如氨基酸、有机酸、植物螯合素、金属硫蛋白和抗氧化酶如抗氧化剂 SOD、抗坏血酸超氧化物和愈创木酚过氧化物酶的基因在水稻中超表达,提高其耐砷性。(2)改造作物砷吸收系统,减少对砷的吸收。(3) As Ⅴ还原为 As Ⅲ,截存在植物根部[121]。但对作物来说主要还是降低砷的吸收量,或者将吸收的砷积累在非食用部分。目前构建耐砷作物的进展还比较缓慢,现在已经筛选到的对砷敏感的拟南芥突变体,能将大部分吸收的砷储存在根部而不向地上部转移[122],对突变体的进一步研究有望对植物砷的转基因工程提供帮助。

研究超积累耐砷植物的另一个目的是期望通过植物提取的方法来修复砷污染土壤。植物提取是指利用特殊植物对重金属吸取并积累在地上部,通过收获地上部来减少土壤污染物的含量,主要以重金属超积累植物为主。它被认为是最重要的植物修复砷污染土壤的手段[123]。宋书巧等[124]研究指出,广西南丹县蜈蚣草每年可从每公顷土层中清除 6 kg 左右的砷。对于污染较轻的土壤,如砷浓度为 50 mg/kg,按土层厚度 20 cm、土壤容重 1.2 g/cm^3 计算,则每公顷含砷量为 120 kg,与 40 mg/kg 土壤环境标准相比较,超标 24 kg,用蜈蚣草 4 年时间就可以使砷含量降到土壤环境标准值以下[125]。Visoottiviseth 的研究指出[57],粉叶蕨每年可从每公顷土壤中清除 40 kg 砷。因此,砷超积累植物在植物修复方面具有很大潜力。但目前对砷超积累植物的研究主要还集中在蜈蚣草,可能还会发现修复潜力更大的植物种类。今后需要加强对砷超积累植物的筛选,并研究其超积累砷的生理和分子机制,这样就可能通过基因工程的手段,使其它物种也具有超积累砷的能力,使植物修复的空间更大。

参 考 文 献:

[1] Sundaram S, Rathinasabapathi B, Ma L Q, Rosen B P. An arsenate-activated glutaredoxin from the arsenic hyperaccumulator fern *Pteris vittata* L. regulates intracellular arsenite [J]. J. Bio. Chem, 2008, 283(10): 6095-6101.

[2] Mandal B K, Suzuki K T. Arsenic round the world: a review[J]. Talanta, 2002, 58(1): 201-235.

[3] 金银龙,梁超轲,何公理,等. 中国地方性砷中毒分布总调查[J]. 卫生研究,2003,32(6): 519-540.
Jin Y L, Liang C K, He G L *et al*. Study on distribution of endemic arsenism in China[J]. J. Hygiene Res., 2003, 32(6): 519-540.

[4] 李强,莫大伦. 土壤环境中砷污染的危害及其研究进展[J]. 热带亚热带土壤科学,1997,6(4): 291-295.
Li Q, Mo D L. Toxic action and development of research of arsenic pollution in soils environment [J]. Trop. Subtrop. Soil Sci., 1997, 6(4): 291-295.

[5] 陈同斌,韦朝阳,黄泽春,等. 砷超富集植物蜈蚣草及其对砷的富集特征[J]. 科学通报,2002,47(3): 207-210.
Chen T B, Wei Z Y, Huang Z C *et al*. Characters of *Pterts vittata* L. hyperaccumulating arsenic [J]. Chin. Sci. Bull, 2002, 47(3): 207-210.

[6] Matschullat J. Arsenic in the geosphere-A review[J]. Sci. Total Environ, 2000, 249(1): 297-312.

[7] Nriagu J Q, Pacyna J M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals[J]. Nature, 1988, 333(6169): 134-139.

[8] 魏复盛,陈静生,吴燕玉,郑春江. 中国土壤环境背景值研究[J]. 环境科学,1991,12(4):12-19.
Wei F S, Chen J S, Wu Y Y, Zheng C J. The study of China environmental background level[J]. Environ. Sci., 1991, 12(4): 12-19.

[9] 翁焕新, 张霄宇, 邹乐君, 等. 中国土壤中砷的自然存在状况及其成因分析[J]. 浙江大学学报, 2000, 34(1): 88-92.
Wen H X, Zhang X Y, Zou L J *et al*. Natural existence of arsenic in soil of China and its cause of formation[J]. J. Zhejiang Univ., 2000, 34(1): 88-92.

[10] Tossell R W, Binard K, Rafferty M T. Uptake of arsenic by Tamarisk and Eucalyptus under saline conditions[A]. Wickramanayake G B, Gavaskar A R, Meman B C *et al*(eds.). Bioremediation and phytoremediarion of chlorinated and recalcitrant compounds[M]. Columbus: Battelle Press, 2000. 485-492.

[11] Fergusson J E. The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects [M]. Oxford, England: Pergamon Press, 1990. 614.

[12] Sadiq M. Solubility relationships of arsenic in calcareous soils and its uptake by corn [J]. Plant Soil, 1986, 91(2): 241-248.

[13] Mark T, Šlejkovec Z, Jeran Z *et al*. Uptake and biotransformation of arsenate in the lichen *Hypogymnia physodes*(L.)Nyl[J]. Environ. Pollut., 2008, 151(2): 300-307.

[14] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the specification of particulate trace metals [J]. Anal. Chem., 1979, 51(7): 844-850.

[15] Howard J L, Brink V W J. Sequential extraction analysis of heavy metals in sediments of variable composition using nitrilotriacetic acid to counteract resorption[J]. Environ. Pollut., 1999, 106(3): 285-292.

[16] Turpeinen R, Pantsar-Kallio M, Häggblom M, Kairesalo T. Influence of microbes on the mobilization, toxicity, and biomethylation of arsenic in soil [J]. Sci. Total. Environ., 1999, 236(1): 173-180.

[17] Wenzel W W, Kirchbaumer N, Prohaska T *et al*. Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure[J]. Anal. Chim. Acta, 2001, 436(2): 309-323.

[18] Cullen W R, Reimer K J. Arsenic speciation in the environment

[J]. Chem. Rev, 1989, 89(4): 713-764.

[19] Hinsinger P, Plassard C, Jaillard B. Rhizosphere: A new frontier for soil biochemistry[J]. J. Geochem. Explor., 2006, 88(1-3): 210-213.

[20] Fitz W J, Wenzel W W. Arsenic transformation in soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation[J]. J. Biotechnol., 2002, 99(3): 259-278.

[21] Tu S, Ma L, Luongo T. Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* and non-hyperaccumulating *Nephrolepis exaltata* [J]. Plant Soil, 2004, 258(1): 9-19.

[22] Abedin M J, Feldmann J, Meharg A A. Uptake kinetics of arsenic species in rice plants[J]. Plant Physiol., 2002, 128(3): 1120-1128.

[23] Meharg A A. Arsenic in rice-understanding a new disaster for South-East Asia[J]. Trends Plant Sci., 2004, 9(9): 415-417.

[24] Fitz W J, Wenzel W W, Zhang H *et al*. Rhizosphere characteristics of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and monitoring of phytoremoval efficiency[J]. Environ. Sci. Technol., 2003, 37(21): 5008-5014.

[25] Silva Gonzaga M I, Santos J A. G, Ma L Q. Arsenic chemistry in the rhizosphere of *Pteris Vittata* L. and *Nephrolepis exaltata* L. [J]. Environ. Pollut., 2006, 143(2): 254-260.

[26] Bowen H J M. Environmental chemistry of the elements[M]. London: Academic Press, 1979. 333.

[27] Helgesen H, Larsen E H. Bioavailability and speciation of arsenic in carrots grown in contaminated soil[J]. Analyst, 1998, 123(5): 791-796.

[28] Asher C J, Reay P F. Arsenic uptake by barley seedlings[J]. Aust. J. Plant Physiol., 1979, 6(4): 459-466.

[29] Poynton C Y, Huang J W, Blaylock M J *et al*. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris* species: root As influx and translocation[J]. Planta, 2004, 219(6): 1080-1088.

[30] Rathinasabapathi B, Raman S B, Kertulis G, Ma L. Arsenic resistant proteobacterium in the phyllosphere of the Chinese brake fern(*Pteris vittata* L.)reduces arsenate to arsenite[J]. Can. J. Microbiol., 2006, 52(7): 695-700.

[31] Wang J R, Zhao F J, Meharg A A *et al*. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation[J]. Plant Physiol., 2002, 130(3): 1552-1561.

[32] Chen T B, Fan Z L, Lei M *et al*. Effect of phosphorus on arsenic accumulation in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its implication[J]. Chin. Sci. Bull., 2002, 47(22): 1876-1879.

[33] Luongo T, Ma L Q. Characteristics of arsenic accumulation by *Pteris* and non-*Pteris* ferns[J]. Plant Soil, 2005, 277(1-2): 117-126.

[34] Meharg A A, Jardine L. Arsenite transport into paddy rice(*Oryza sativa*)roots[J]. New Phytol., 2003, 157(1): 39-44.

[35] Zhao F J, Ma J F, Meharg A A, McGrath S P. Arsenic uptake and metabolism in plants[J]. New Phytol, 2009, 181(4): 777-794.

[36] Kertulis-Tartar G, Ma L Q, Macdonald G E *et al*. Arsenic speciation and transport in *Pteris vittata* L. and the effects on phosphorus in the xylem sap[J]. Environ. Exp. Bot., 2005, 54(3): 239-247.

[37] Pickering I J, Prince R C, George M J *et al*. Reduction and coordination of arsenic in India mustard[J]. Plant Physiol., 2000, 122(4): 1171-1177.

[38] Raab A, Schat H, Meharg AA, Feldmann J. Uptake, translocation and transformation of arsenate and arsenite in sunflower(*Helianthus annuus*): formation of arsenic-phytochelatin complexes during exposure to high arsenic concentrations[J]. New Phytol., 2005, 168(3): 551-558.

[39] Pickering I J, Gumaelius L, Harris H H *et al*. Localizing the biochemical transformations of arsenate in a hyperaccumulating fern [J]. Environ. Sci. Technol., 2006, 40(16): 5010-5014.

[40] Hokura A, Omuma R, Terada Y *et al*. Arsenic distribution and speciation in an arsenic hyperaccumulator fern by X-ray spectrometry utilizing a synchrotron radiation source[J]. J. Anal Atom. Spectrom., 2006, 21(3): 321-328.

[41] Huang Z C, Cheng T B, Lei M, Hu T D. Direct determination of arsenic species in arsenic hyperaccumulation *Pteris vittata* by EXAFS[J]. Acta Bot. Sin, 2004, 46(1): 46-50.

[42] Zhao F J, Wang J R, Barker J H A *et al*. The role of phytochelatins in arsenic tolerance in the hyperaccumulator *Pteris vittata* [J]. New Phytol., 2003, 159(2): 403-410.

[43] Duan G L, Zhu Y G, Tong Y P *et al*. Characterization of arsenate reductase in the extract of root and fronds of Chinese Brake Fern, an arsenic hyperaccumulator[J]. Plant Physiol., 2005, 138(1): 461-469.

[44] Bleeker P M, Hakvoort H W J, Bliek M *et al*. Enhanced arsenate reduction by a CDC25-like tyrosine phophatase explains increased phytochelatin accumulation in arsenate-tolerance *Holcus Lanatus* [J]. Plant J., 2006, 45(6): 917-929.

[45] Quaghebeur M, Renzel Z. Arsenic uptake, translocation and speciation in *pho*1 and *pho*2 mutants of *Arabidopsis thaliana* [J]. Physiol. Plant, 2004, 120(2): 280-286.

[46] Meharg A A, Macnair M R. Suppression of the high-affinity phosphate uptake system: a mechanism of arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L[J]. J. Exp. Bot., 1992, 43(4): 519-524.

[47] McGrath S P, Zhao F J. Phytoextraction of metals and metalloid from contaminated soil[J]. Curr. Opin. Biotech., 2003, 14(3): 277-282.

[48] Rocovich S E, West D A. Arsenic tolerance in a population of the grass *Andropogon scoparius* Michx[J]. Science, 1975, 188(4185): 263-264.

[49] De Koe T. Jaques N M M. Arsenate tolerance in *Agrostis castellana* and *Agrostis delicatula* [J]. Plant Soil, 1993, 151(2): 185-191.

[50] Meharg A A, Macnair M. The mechanisms of arsenate tolerance in *Deschampsia cespitosa* (L.) *Beauv.* and *Agrostis capillaris* L [J]. New Phytol., 1991, 119(2): 291-297.

[51] Macnair M R, Cumbers Q. Evidence that arsenic tolerance in

Holcus Lanatus L. is caused by an altered phosphate uptake system[J]. New Phytol., 1987, 107(2): 387-394.

[52] Paliouris G, Hutchinson T C. Arsenic, cobalt and nickel tolerances in two populations of *Silene Vulgaris*(moench) garcke from ontario, Canada[J]. New Phytol., 1991, 117(3): 449-459.

[53] Pollard A J. Diversity of metal tolerances in *Plantago Lanceolata* L. from the Southeastern United States[J]. New Phytol., 1980, 86(1): 109-117.

[54] Sharples J M, Meharg A A, Chambers S M, Cairney J W G. Symbiotic solutions to arsenic contamination[J]. Nature, 2000, 404(6781): 951-952.

[55] Ma L Q, Komar K M, Tu C *et al*. A fern that hyperaccumulates arsenic-a hardy, versatile, fast-growing plants helps to remove arsenic from contaminated soils[J]. Nature, 2001, 409(6820): 579.

[56] Zhao F J, Dunham S J, McGrath S P. Arsenic hyperaccumulation by different fern species[J]. New Phytol., 2002, 156(1): 27-31.

[57] Visoottiviseth P, Francesconi K, Sridokchan W. The potential of *Thai indigenous* plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land[J]. Environ. Pollut., 2002, 118(3): 453-461.

[58] Srivastava M, Ma L Q, Santos J A G. Three new arsenic hyperaccumulating ferns[J]. Sci. Total Environ., 2006, 364(1-3): 24-31.

[59] Catarecha P, Segura M D, Franco-Zorrilla J M *et al*. A mutant of the *Arabidopsis* phosphate transporter *PHT*1; 1 displays enhanced arsenic accumulation[J]. Plant Cell, 2007, 19(3): 1123-1133.

[60] Bleeker P M, Schet H, Vooijs R *et al*. Mechanisms of arsenate tolerance in *Cytisus striatus* [J]. New Phytol., 2003, 157(1): 33-38.

[61] Meharg A A, Macnair M R. An altered phosphate uptake system in arsenate-tolerant *Holcus lanatus* L[J]. New Phytol., 1990, 116(1): 29-35.

[62] Meharg A A, Macnair M R. Genetic correlation between arsenate tolerance and the rate of influx of arsenate and phosphate in *Holcus lanatus* L[J]. Heredity, 1992, 69(4): 336-341.

[63] Macnair M R, Cumbes Q J, Meharg A A. The genetics of arsenate tolerance in *Yorkshire fog*, *Holcus lanatus* L[J]. Heredity, 1992, 69(4): 325-335.

[64] Lombi E, Zhao F J, Fuhrmann M *et al*. Arsenic distribution and speciation in the fronds of the hyperaccumulator *Pteris vittata* [J]. New Phytol., 2002, 156(2): 195-203.

[65] Tu C, Ma L Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator *Ladder brake* [J]. J. Environ. Qual., 2002, 31(2): 641-647.

[66] Caille N, Zhao F J, McGrath S P. Comparison of root absorption, translocation and tolerance of arsenic in the hyperaccumulator *Pteris vittata* and the nonhyperaccumulator *Pteris tremula* [J]. New Phytol., 2005, 165(3): 755-761.

[67] Ellis D R, Gumaelius L, Indriono E *et al*. A novel arsenate reductase from the arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* [J]. Plant Physiol., 2006, 141(4): 1544-1554.

[68] Dhankher O P, Rosen B P, Mckinney E C. Hyperaccumulation of arsenic in the shoots of *Arabidopsis* silenced for arsenate reductase(ACR2)[J]. PNAS, USA, 2006, 103(14): 5413-5418.

[69] Singh N, Ma L Q. Arsenic speciation, and arsenic and phosphate distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and non-hyperaccumulator *Pteris ensiformis* L[J]. Environ. Pollut., 2006, 141(2): 238-246.

[70] Tu S, Ma L Q, Macdonald G E, Bondada B. Effects of arsenic species and phosphorus on arsenic absorption, arsenate reduction and thiol formation in excised parts of *Pteris vittata* L[J]. Environ. Exp. Bot., 2004, 51(2): 121-131.

[71] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. J. Exp. Bot., 2002, 53(366): 1-11.

[72] Hartley-Whitaker J, Ainsworth G, Meharg A A. Copper and arsenate induced oxidative stress in *Holcus lanatus* L. clones with differential sensitivity[J]. Plant Cell Environ., 2001, 24(7): 713-722.

[73] Schat H, Llugany M, Vooijs R *et al*. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and nonhyperaccumulator metallophytes[J]. J. Exp. Bot., 2002, 53(379): 2382-2392.

[74] Ha S B, Smith A P, Howden R *et al*. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe* [J]. Plant Cell, 1999, 11(6): 1153-1163.

[75] Gasic K, Korban S S. Transgenic Indian mustard(*Brassica juncea*) plants expressing an *Arabidopsis* phytochelatin synthase(AtPCS1) exhibit enhanced As and Cd tolerance[J]. Plant Mol. Biol., 2007, 64(4): 361-369.

[76] Schmöger M E V, Oven M, Grill E. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants[J]. Plant Physiol., 2000, 122(3): 793-801.

[77] Raab A, Feldmann J, Meharg A A. The nature of arsenic-phytochelatin complexs in *Holcus lanatus* and *Pteris cretica* [J]. Plant Physiol., 2004, 134(3): 1113-1122.

[78] Montes-Bayón M, Meija J, Leduc D L *et al*. HPLC-ICP-MS and ESI-Q-TOF analysis of biomolecules induced in *Brassica juncea* during arsenic accumulation[J]. J. Anal. Atom. Spectrom., 2004, 19(1): 153-158.

[79] Cai Y, Su J H, Ma L Q. Low molecular weight thiols in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* upon exposure to arsenic and other trace elements[J]. Environ. Pollut., 2004, 129(1): 69-78.

[80] Dong R, Formentin E, Losseo C *et al*. Molecular cloning and characterization of a phytochelatin synthase gene, *PvPCS*1, from *Pteris vittata* L.[J]. J. Ind. Microb. Biotechnol., 2005, 32(11-12): 527-533.

[81] Li Y J, Dhankher O P, Carreira L *et al*. Overexpression of phytochelatin synthase in *Arabidopsis* leads to enhanced arsenic tolerance and cadmium hypersensitivity[J]. Plant Cell Physiol., 2004, 45(12): 1787-1797.

[82] Picault N, Cazalé A C, Beyly A *et al*. Chloroplast targeting of phytochelatin synthase in *Arabidopsis*: effects on heavy metal tolerance and accumulation[J]. Biochimie, 2006, 88(11): 1743

-1750.

[83] Hartley-Whitaker J, Woods C, Meharg A A. Is differential phytochelatin production related to decreased arsenate influx in arsenate tolerant *Holcus lanatus*? [J]. New Phytol., 2002, 155(2): 219-225.

[84] Singh N, Ma L Q, Srivastava M, Rathinasabapathi B. Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Pteris vittata* L. and *Pteris ensiformis* L. [J]. Plant Sci., 2006, 170(2): 274-282.

[85] Li Y J, Dhankher O P, Carreira L *et al*. Arsenic and mercury tolerance and cadmium sensitivity in *Arabidopsis* plants expressing bacterial γ-Glutamylcysteine synthetase[J]. Environ. Toxicol. Chem., 2005, 24(6): 1376-1386.

[86] Li Y J, Dhankher O P, Carreira L *et al*. The shoot-specific expression of γ-Glutamylcysteine synthetase directs the long-distance transport of thiol-peptides to roots conferring tolerance to mercury and arsenic[J]. Plant Physiol., 2006, 141(1): 288-298.

[87] Sung D Y, Lee D, Harris H *et al*. Identification of an arsenic tolerant double mutant with thiol-mediated component and increased arsenic tolerance in *phyA* mutant[J]. Plant J., 2007, 49(6): 1064-1075.

[88] Dhankher O P, Li Y J, Rosen B P *et al*. Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and γ-glutamylcysteine synthetase expression[J]. Nat Biotechnol., 2002, 20(11): 1140-1145.

[89] Meharg A A, Macnair M R. Relationship between plant phosphorus status and the kinetics of arsenate influx in clones of *Deschampsia cespitosa* (L.) *Beauv.* that differ in their tolerance to arsenate[J]. Plant Soil, 1994, 162(1): 99-106.

[90] Tu C, Ma L Q. Effects of arsenic on concentration and distribution of nutrients in the fronds of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. [J]. Environ. Pollut., 2005, 135(2): 333-340.

[91] Srivastava M, Ma L Q, Cotruvo J A. Uptake and distribution of selenium in different fern species[J]. Int. J. Phytorem., 2005, 7(1): 33-42.

[92] Fayiga A O, Ma L Q, Rathinasabapathi B. Effects of nutrients on arsenic accumulation by arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. [J]. Environ. Exp. Bot., 2008, 62(3): 231-237.

[93] Shin H, Shin S H, Dewbre G R, Harrison M J. Phosphate transport in *Arabidopsis*: Pht1;1 and Pht1;4 play a major role in phosphate acquisition from both low- and high-phosphate environments[J]. Plant J., 2004, 39(4): 629-642.

[94] González E, Solano R, Rubio V *et al*. Phosphate transporter traffic facilitator1 is a plant-specific SEC12-related protein that enables the endoplasmic reticulum exit of a high-affinity phosphate transporter in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2005, 17(12): 3500-3512.

[95] Lee D A, Chen A, Schroeder J I. *ars*1, an *Arabidopsis* mutant exhibiting increased tolerance to arsenate and increased phosphate uptake[J]. Plant J., 2003, 35(5): 637-646.

[96] Verbruggen N, Hermans C, Schat H. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants[J]. Curr. Opin. Plant Biol., 2009, 12(3): 364-372.

[97] Burló F, Guijarro I, Carbonell-Barrachina A A *et al*. Arsenic species: effects on and accumulation by tomato plants[J]. J. Agric. Food. Chem., 1999, 47(3): 1247-1253.

[98] Mitchell P, Barr D. The nature and significance of public exposure to arsenic: a review of its relevance to South West England [J]. Environ. Geochem. Health, 1995, 17(2): 57-82.

[99] Marin A R, Masscheleyn P H, Patrick W H. The influence of chemical form and concentration of arsenic on rice growth and tissue arsenic concentration[J]. Plant Soil, 1992, 139(2): 175-183.

[100] 陈同斌,黄泽春,黄宇营,等. 砷超富集植物中元素的微区分布及其与砷富集的关系[J]. 科学通报,2003,48(11): 1163-1168.
Chen T B, Huany Z C, Huang Y Y *et al*. The sublocation of nutrients in arsenic hyperaccumulation plants and its relation with the arsenic gathering[J]. Chin. Sci. Bull., 2003, 48(11): 1163-1168.

[101] 李文学,陈同斌,陈阳,雷梅. 蜈蚣草毛状体对砷的富集作用及其意义[J]. 中国科学 C 辑(生命科学), 2004, 34(5): 402-408.
Li W X, Chen T B, Chen Y, Lei M. The function and significance of trichome in *Pterts vittata* L. on the arsenic accumulation [J]. Sci. China Ser. C(Life Sci.), 2004, 34(5): 402-408.

[102] Küpper H, Lombi E, Zhao F J, Mcgrath S P. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. Planta, 2000, 212(1): 75-84.

[103] 陈同斌,闫秀兰,廖晓勇,等. 蜈蚣草中砷的亚细胞分布与区隔化作用[J]. 科学通报,2005,50(24): 2739-2744.
Chen T B, Yan X L, Liao X Y *et al*. The sublocation of arsenic in *Pterts vittata* L. [J]. Chin. Sci. Bull., 2005, 50(24): 2739-2744.

[104] 詹宝,徐文忠,麻密. 砷超富集植物蜈蚣草原生质体的分离及其抗砷性分析[J]. 植物学通报,2006,23(4): 363-367.
Zhan B, Xu W Z, Ma M. Isolation and analysis for arsenic tolerance of protoplasts from arsenic hyperaccumulator *Pterts vittata* [J]. Chin. Bull. Bot., 2006, 23(4): 363-367.

[105] Ghosh M, Shen J, Rosen P. Pathways of As(III) detoxification in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. PNAS, USA, 1999, 96(9): 5001-5006.

[106] Tripathi R D, Srivastava S, Mishra S *et al*. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants[J]. Trends Biotechnol., 2007, 25(4): 158-165.

[107] Chou W C, Jie C F, Kenedy A A *et al*. Role of NADPH oxidase in arsenic-induced reactive oxygen species formation and cytotoxicity in myeloid leukemia cells[J]. PNAS, USA, 2004, 101(13): 4578-4583.

[108] Delnomdedieu M, Basti M M, Otvos J D, Thomas D J. Reduction and binding of arsenate and dimethylarsinate by glutathione: a magnetic resonance study[J]. Chem. Biol. Interact, 1994, 92(2): 139-155.

[109] Meharg A A, Hartley-Whitaker J. Arsenic uptake and metabo-

lism in arsenic resistant and nonresistant plant species[J]. New Phytol., 2002, 154(1): 29-34.

[110] Cao X, Ma L Q, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern(*Pteris vittata* L.)[J]. Environ. Pollut., 2004, 128(3): 317-325.

[111] Oremland R S, Stolz J F. The ecology of arsenic[J]. Science, 2003, 300(5621): 939-944.

[112] Rathinasabapathi B, Raman S B, Kertulis G, Ma L. Arsenic resistant proteobacterium in the phyllosphere of the Chinese brake fern(*Pteris vittata* L.) reduces arsenate to arsenite[J]. Can. J. Microbiol., 2006, 52(7): 695-700.

[113] Liu Y, Zhu Y G, Chen B D *et al*. Influence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on uptake of arsenate by the As hyperaccumulator fern *Pteris vittata* L.[J]. Mycorrhiza, 2005, 15(3): 187-192.

[114] Chen B D, Zhu Y G, Smith F A. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern(*Pteris vittata* L.) from a uranium mining-impacted soil[J]. Chemosphere, 2005, 62(9): 1464-1473.

[115] Agely A A, Sylvia D M, Ma L Q. Mycorrhizae increase arsenic uptake by the hyperaccumulator Chinese brake fern(*Pteris vittata* L.)[J]. J. Environ. Qual, 2005, 34(6): 2181-2186.

[116] Xu P L, Christie P, Liu Y *et al*. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* can enhance arsenic tolerance in *Medicago truncatula* by increasing plant phosphorous status and restricting arsenate uptake[J]. Environ. Pollut., 2008, 156(1): 215-220.

[117] Meharg A A, Rahman M M. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption[J]. Environ. Sci. Technol., 2003, 37(2): 229-234.

[118] Liao X Y, Chen T B, Xie H, Liu Y R. Soil As contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou City, Southern China[J]. Environ. Int., 2005, 31(6): 791-798.

[119] Dasgupta T, Hossain S A, Meharg A A, Price A H. An arsenate tolerance gene in chromosome 6 of rice[J]. New Phytol., 2004, 163(1): 45-49.

[120] Zhang J, Zhu Y G, Zeng D L *et al*. Mapping quantitative trait loci associated with arsenic accumulation in rice(*Oryza sativa*)[J]. New Phytol., 2008, 177(2): 350-355.

[121] Zhu Y G, Rosen B P. Perspectives for genetic engineering for the phytoremediation of arsenic-contaminated environments: from imagination to reality?[J]. Curr. Opin. Biotech., 2009, 20(2): 220-224.

[122] 杨晓娟. 拟南芥不同砷反应突变体的筛选及其生长特性研究[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文,2009.
Yang X J. Screening and growth analysis of *Arabidopsis thaliana* mutant with different responses to arsenic[D]. Beijing: PhD dissertation of China Agricultural University, 2009.

[123] 刘于. 丛枝菌根真菌对植物吸收富集砷的作用及机理[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文,2007.
Liu Y. Role of arbuscular mycorrhizal fungus in uptake and accumulation in *Pteris vittata* L. and its mechanism[D]. Beijing: PhD dissertation of China Agricultural University, 2007.

[124] 宋书巧,周永章,周兴,吴欢. 土壤砷污染特点与植物修复探讨[J]. 热带地理,2004,24(1): 6-9.
Song S Q, Zhou Y Z, Zhou X, Wu H. Arsenic contamination in soil and its phytoremediation[J]. Trop. Geogr., 2004, 24(1): 6-9.

[125] 查红平,肖维林,雷晓林,董瑞娥. 砷的植物修复研究进展[J]. 地质灾害与环境保护,2007,18(2): 55-56.
Zha H P, Xiao W L, Lei X L, Dong R E. Advances in research of arsenic phytoremediation[J]. J. Geol. Haz. Environ. Preserv., 2007, 18(2): 55-56.