

镉对超富集植物圆锥南芥氮素代谢的影响研究*

于方明¹ 仇荣亮^{1,2†} 周小勇¹ 应蓉蓉¹ 汤叶涛^{1,2} 赵璇¹
胡鹏杰¹ 曾晓雯¹

(1 中山大学环境科学与工程学院, 广州 510275)

(2 广东省环境污染控制与修复技术重点实验室, 广州 510275)

摘要 采用土培方法,研究了不同 Cd 添加(0、10、20、40、80、160 和 240 mg kg⁻¹)对超富集植物圆锥南芥叶片中氮素含量以及氮代谢关键酶活性的影响。结果表明,随着 Cd 添加浓度的增加,圆锥南芥的生物量、叶片数、直径长以及 Cd 含量均呈增加趋势。Cd 添加浓度为 240 mg kg⁻¹时,生物量增加了 137%,叶片数增加了 1.02 倍,直径较对照增加了 130%,叶片中 Cd 含量达到 451 mg kg⁻¹。NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 呈先降低后升高的变化趋势,在 Cd 浓度为 240 mg kg⁻¹时,达最大值。在 Cd 处理浓度为 10、20、40、80 mg kg⁻¹时,NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 含量间无显著性差异($p > 0.05$)。在 Cd 添加浓度为 240 mg kg⁻¹时,硝酸还原酶(NR)活性只相当于对照的 67%,与对照间的差异显著。在 Cd 处理浓度为 10~160 mg kg⁻¹时,NR 活性与对照间无显著性差异($p > 0.05$)。谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合酶(GOGAT)活性以及可溶性蛋白质含量在 Cd 处理浓度为 10~240 mg kg⁻¹时,与对照间无显著性差异($p > 0.05$)。谷氨酸脱氢酶(GDH)活性呈先升高后降低的变化趋势。游离脯氨酸含量在 Cd 浓度为 10、20、40、80、160、240 mg kg⁻¹时,分别为对照的 0.67 倍、1.29 倍、1.54 倍、2.38 倍、2.54 倍、1.14 倍。

关键词 镉;圆锥南芥;氮代谢;酶活性

中图分类号 Q946.5 **文献标识码** A

根际中 Cd 的存在破坏了植物的氮素代谢、光合作用、碳代谢、硫代谢以及植物的水分平衡^[1]。研究发现,Cd 污染通过降低植物对硝酸盐的吸收以及氮代谢关键酶硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)^[2]、谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase, GS)、谷氨酸合酶(Glutamate synthase, GOGAT)^[3,4]以及谷氨酸脱氢酶(Glutamate dehydrogenase, GDH)^[1]等酶的活性来破坏植物的氮素代谢过程,其相关规律在玉米^[3]、豌豆^[4]、小白菜^[5]等农作物中得到证实。

超富集植物生物量较小,但能够吸收较一般植物高 100 倍的重金属而对本身未造成任何伤害^[6,7]。目前对超富集植物研究较多的是重金属的吸收、转运、富集机理以及解毒机制^[8~10],很少涉及代谢途径。在其特别的解毒机制作用下,其氮素代谢过程是否与非超富集植物有不同之处,值得深入研究。因此,本文以新发现的多重金属超富集植物圆锥南芥(*Arabis paniculata* Franch)^[11]为研究对象,

研究了不同 Cd 水平培养条件下,Cd 对圆锥南芥叶片中铵态氮、硝态氮含量以及氮素代谢关键酶活性的影响,旨在为超富集植物金属解毒机制研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 土壤处理

本试验共设 7 个处理,每处理 3 次重复。供试土壤采自华南农业大学教学菜园,将风干、过 2 mm 筛的土壤装入塑料盆中,每盆 1 kg,共 21 盆。7 个处理添加 Cd 的浓度分别为 0、10、20、40、80、160、240 mg kg⁻¹(以 CdCl₂·2.5H₂O 加入,单 Cd 计算,设 Cd 添加浓度为 0 的处理为对照)。基肥标准:N 100 mg kg⁻¹干土,以硝酸铵加入;P 80 mg kg⁻¹和 K 100 mg kg⁻¹,以 KH₂PO₄加入。在种植植物之前,用去离子水使土壤保持湿润,平衡 4 周。表 1 为供

* 国家自然科学基金项目(40571144)、广东省自然科学基金重点项目(05101824)、广东省自然科学基金团队项目(06202438)、教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(NCET-04-0790)、985 二期“环境与污染控制技术创新平台”项目资助

† 通讯作者,仇荣亮,电话:020-84113454, E-mail:eesqrl@mail.sysu.edu.cn

作者简介:于方明(1975~),男,博士研究生,主要研究方向为水土环境污染生物修复。E-mail:Fmyu1215@163.com

收稿日期:2007-01-14;收到修改稿日期:2007-07-23

试土壤的基本理化性质,表 2 为平衡后土壤中 Cd 含量及 DTPA 提取态 Cd 含量。

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physico-chemical properties of tested soil

DTPA 提取态含量 DTPA-extractable (mg kg^{-1})						总氮 Total N (g kg^{-1})	有机质 Organic matter (g kg^{-1})	pH (H_2O)
Mn	Zn	Mg	Pb	Cu	Fe			
49.0	84.2	46.0	8.02	1.50	60.9	2.07	28.4	5.87

表 2 平衡后土壤各处理中 Cd 含量

Table 2 Soil Cd contents in the treatments before planting (mg kg^{-1})

Cd 添加浓度 Cd addition	Cd 全量 Total Cd	DTPA-Cd
0	0.61 \pm 0.08	0.35 \pm 0.02
10	10.8 \pm 0.5	6.9 \pm 0.3
20	21.2 \pm 0.2	14.3 \pm 0.4
40	42.7 \pm 1.4	26.7 \pm 0.8
80	84.9 \pm 0.8	56.1 \pm 0.4
160	158.0 \pm 0.2	86.7 \pm 1.9
240	241.0 \pm 4.2	112.0 \pm 2.1

1.2 植物培养

圆锥南芥的种子采自云南省兰坪县金顶镇的铅锌矿区。种子经消毒后直接撒播在花卉培养土上(购自中山大学花卉市场),待小苗长到 4 片叶子时移入经过处理的土壤,每盆留 4 株,常规管理,生长 135 d 后收获,收获时地上部分为叶,无明显的茎的分化。整个生长培育过程在温室中完成。

1.3 试验方法

1.3.1 生物量 将植株从土壤中取出,自来水冲洗干净后,用超纯水进一步清洗。吸水纸吸干其表面水分,分别称鲜重。以对角的两片叶子的自然伸展长度计算直径长。

1.3.2 酶液的提取与活性测定 硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸脱氢酶的提取与活性测定参照文献[12]的方法完成。硝酸还原酶以 1 h 内还原 KNO_3 生成 NO_2^- 的 μg 数表示酶活性。谷氨酰胺合成酶活性以 1 h 内形成 $1 \mu\text{mol}^-$ 谷氨酰基羟肟酸的酶量作为 1 个酶活性单位。谷氨酸脱氢酶以比活性单位 $\text{NADH } \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ 蛋白质表示活性。谷氨酸

合酶的提取与测定参照 Sánchez 等^[13]的方法完成,以每分钟反应液减少 $1 \mu\text{mol}$ 的 NADH 所需的酶量定义为 1 个酶活性单位。

1.3.3 氮素含量、脯氨酸含量和蛋白质含量的测定

圆锥南芥叶片中可溶性蛋白质、铵态氮、硝态氮以及游离脯氨酸含量的测定,参照李合生等^[14]的方法完成。

1.3.4 金属含量测定 称取 0.250 g 烘干且磨碎的圆锥南芥于 100 ml 三角瓶中,加入 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (体积比 3:1),消煮至澄清,用去离子水定容后采用原子吸收分光光度计(AAS, HITACHI-Z5000)测定,同时加做标准样(西红柿叶,ESP-1,中国环境监测总站)。土壤 Zn、Cd、Pb 的 DTPA(二乙烯三胺五乙酸)提取态采用 0.005 mol L^{-1} 的 DTPA 浸提法测定。土壤 Cd 全量测定,称取过 100 目尼龙筛土壤样品 0.100 g,加入 2 ml 浓 HNO_3 、1 ml HClO_4 、1 ml HF ,于聚四氟乙烯罐中 180 $^\circ\text{C}$ 下密闭消化 8 h,凉后用 2% 的硝酸溶液定容 25 ml。

以上测定至少 3 次重复。所有数据用 SPSS11.5 软件处理。

2 结果与分析

2.1 Cd 对圆锥南芥生物量的影响

从表 3 中可以看出随着 Cd 添加浓度的增加,圆锥南芥的生物量、叶片数与直径呈增加的变化趋势。在 Cd 添加浓度低于 80 mg kg^{-1} 时,Cd 对圆锥南芥生物量的影响不显著。当 Cd 添加浓度为 240 mg kg^{-1} 时,生物量增加了 137%,叶片数增加了 1.02 倍,直径较对照增加了 130%。在 Cd 处理浓度为 160、 240 mg kg^{-1} 时,叶片数、直径与其他处理间的差异显著($p < 0.05$),表明 Cd 的添加有利于圆锥南芥的生长。

表 3 Cd 添加对圆锥南芥生长的影响

Table 3 Effect of Cd addition on biomass of whole plants of *Arabis paniculata* F.

Cd 添加浓度 Cd addition (mg kg^{-1})	株重 Whole plant (g, FW)	对照 ¹⁾ Control (%)	叶片数 Leaves (p)	对照 ¹⁾ Control (%)	直径 Diameter (cm)	对照 ¹⁾ Control (%)
0	0.61 \pm 0.19 b	100	13.7 \pm 2.08 b	100	4.16 \pm 0.35 e	100
10	0.59 \pm 0.26 b	97	15.7 \pm 0.58 b	115	4.70 \pm 0.26 de	113
20	0.68 \pm 0.33 b	112	16.3 \pm 1.15 b	120	5.67 \pm 0.42 cd	136
40	0.58 \pm 0.23 b	95	16.7 \pm 0.58 b	122	6.27 \pm 0.57 c	151
80	0.75 \pm 0.29 b	123	17.7 \pm 2.52 b	129	6.33 \pm 0.21 c	152
160	1.19 \pm 0.37 ab	196	24.0 \pm 2.00 a	176	8.00 \pm 0.87 b	192
240	1.44 \pm 0.69 a	237	27.7 \pm 2.08 a	202	9.57 \pm 0.45 a	230

注:表中的结果为平均值 \pm 标准差。1) 表示相应处理与对照间的百分比,以对照的生物量、叶片数、直径为 100%。同一列的不同字母表示用 LSD 法测试时 5% 水平上的差异性显著。下同。Notes: Results are means \pm S. E. 1) Relative ratios of the treatment vs CK in biomass, number of leaves and plant diameter. The same letter in the same column meant no significant differences between the treatments at 0.05 level. The same below

2.2 Cd 添加对圆锥南芥叶片中 Cd 含量的影响

从图 1 中可以看出,随着土壤中 Cd 添加浓度的增加,圆锥南芥叶片中 Cd 含量呈增加的变化趋势。在 Cd 的添加浓度低于 20 mg kg^{-1} 时,叶片中 Cd 含量低于 10 mg kg^{-1} 。当 Cd 添加浓度为 $160, 240 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,叶片中 Cd 含量远远高于其他处理,分别达到 $242, 451 \text{ mg kg}^{-1}$, 分别为 Cd 添加量为 10 mg kg^{-1} 时的 43 倍和 81 倍。表明高浓度的 Cd 处理打破了根系金属跨膜运输的内流与外流平衡,有利于 Cd 的吸收。当 Cd 添加浓度为 $10 \sim 80 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,其富集系数维持在 $0.50 \sim 0.59$ 之间;当 Cd 添加浓度为 $160, 240 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,其富集系数达到 1.51 和 1.88。这从侧面证明了圆锥南芥为 Cd 的超富集植物。

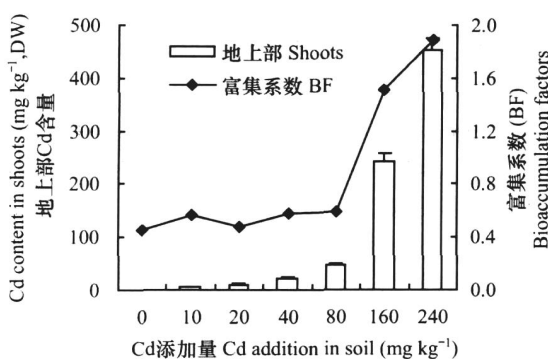


图 1 圆锥南芥地上部 Cd 含量与生物富集系数

Fig. 1 Cd concentrations and bio-accumulation factors in the shoots of *Arabis paniculata* F.

2.3 Cd 对圆锥南芥叶片中硝态氮、铵态氮、游离脯氨酸、可溶性蛋白质含量的影响

在 Cd 处理下(表 4),圆锥南芥叶片 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 有一定的变化。随着 Cd 处理浓度的增加, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 呈先降低后升高的变化趋势,在

Cd 添加浓度为 240 mg kg^{-1} 时,达最大值,其次为 160 mg kg^{-1} 和对照。Cd 处理浓度为 $10, 20, 40, 80 \text{ mg kg}^{-1}$ 时, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量无显著性差异 ($p > 0.05$),且低于对照。表明 $10 \sim 80 \text{ mg kg}^{-1}$ 的 Cd 加速了圆锥南芥 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的同化。可溶性蛋白质在 Cd 处理浓度为 $0 \sim 160 \text{ mg kg}^{-1}$ 间无显著性差异 ($p > 0.05$)。但 $160, 240 \text{ mg kg}^{-1}$ 处理时,可溶性蛋白质含量分别较对照降低了 10% 和 22%,表明此时圆锥南芥蛋白质的合成速率受到了一定的影响。在 40 mg kg^{-1} 时含量最高,较对照提高了 8%,但与对照间的差异不显著 ($p > 0.05$)。圆锥南芥叶片中游离脯氨酸含量呈先降低,后升高,再降低的变化趋势。在 Cd 浓度为 160 mg kg^{-1} 时,含量最高,在 Cd 浓度为 $10, 20, 40, 80, 160, 240 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,分别为对照的 0.67 倍,1.29 倍,1.54 倍,2.38 倍,2.54 倍,1.14 倍。游离脯氨酸含量的增加可有效地防止圆锥南芥体内水分过分丢失和膜脂过氧化增强。

2.4 Cd 对圆锥南芥叶片中 NR、GS、GOGAT、GDH 活性的影响

表 5 是 Cd 添加对圆锥南芥叶片中氮代谢关键酶活性的影响。在 Cd 添加浓度为 $40 \sim 240 \text{ mg kg}^{-1}$ 时, NR 活性均低于对照。在 Cd 添加浓度为 240 mg kg^{-1} 的处理中, NR 活性只相当于对照的 67%,与对照的差异达到显著性水平,但其他处理与对照间无显著性差异 ($p > 0.05$)。NR 活性的降低可能与其本身为富含-SH 的酶有关。圆锥南芥叶片中 GS、GOGAT 活性呈先降低后升高,再降低的变化趋势。在 Cd 处理浓度为 40 mg kg^{-1} 时,活性均最高,其次为 20 mg kg^{-1} 与对照。在 Cd 处理浓度为 160 和 240 mg kg^{-1} 时,两者的活性均低于对照,但与对照之间无显著性差异 ($p > 0.05$)。高活性的 GS 和 GOGAT

更有利于 NH_4^+ 的同化。在 Cd 的胁迫下, GDH 的活性呈先升高后降低的变化趋势, 且均高于对照, 表明 GDH 在氮素同化过程中起重要作用。

表 4 Cd 对圆锥南芥叶片中硝态氮、铵态氮、游离脯氨酸、可溶性蛋白质含量的影响

Table 4 Effects of Cd addition on contents of $\text{NO}_3^- \text{N}$, $\text{NH}_4^+ \text{N}$, free proline and soluble protein in leaves of *Arabis paniculata* F.

Cd 添加浓度 Cd addition (mg kg^{-1})	硝态氮 $\text{NO}_3^- \text{N}$ (mg kg^{-1})	铵态氮 $\text{NH}_4^+ \text{N}$ (mg kg^{-1})	游离脯氨酸 Free proline (mg kg^{-1})	可溶性蛋白质 Soluble protein (mg g^{-1})
0	360 \pm 11 b	478 \pm 118 bc	685 \pm 251 b	7.74 \pm 0.67 ab
10	146 \pm 59 d	353 \pm 145 cd	458 \pm 177 b	7.94 \pm 1.49 ab
20	161 \pm 41 d	357 \pm 112 cd	883 \pm 411 b	8.36 \pm 1.32 a
40	178 \pm 26 d	283 \pm 75 d	1057 \pm 360 b	8.36 \pm 0.57 a
80	158 \pm 18 d	334 \pm 41 cd	1632 \pm 221 a	8.14 \pm 1.52 ab
160	280 \pm 51 c	560 \pm 103 b	1652 \pm 358 a	6.96 \pm 0.54 ab
240	437 \pm 62 a	765 \pm 83 a	782 \pm 378 b	6.02 \pm 1.27 b

表 5 Cd 对圆锥南芥叶片中 NR、GS、GOGAT、GDH 活性的影响

Table 5 Effects of Cd addition on activities of NR, GS, GOGAT and GDH in leaves of *Arabis paniculata* F.

Cd 添加浓度 Cd addition (mg kg^{-1})	NR 活性 NR activity ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	GS 活性 GS activity ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	GOGAT 活性 GOGAT activity ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	GDH 活性 GDH activity ($\mu\text{mol mg}^{-1} \text{min}^{-1}$)
0	8.76 \pm 0.82 ab	32.1 \pm 7.3 abc	6.48 \pm 0.55 ab	1.60 \pm 0.44 c
10	7.89 \pm 0.24 ab	26.4 \pm 1.3 bc	5.28 \pm 0.48 b	2.58 \pm 0.83 bc
20	9.36 \pm 0.71 a	37.5 \pm 6.5 ab	6.36 \pm 0.84 ab	3.57 \pm 0.65 ab
40	8.01 \pm 0.99 ab	39.6 \pm 13.9 a	6.88 \pm 1.12 a	3.60 \pm 0.99 ab
80	5.45 \pm 0.43 abc	27.2 \pm 4.2 abc	5.74 \pm 0.58 ab	3.87 \pm 0.56 a
160	4.75 \pm 0.31 bc	23.1 \pm 4.4 c	5.26 \pm 0.46 b	1.73 \pm 0.47 c
240	3.58 \pm 0.16 c	21.7 \pm 1.4 c	5.42 \pm 0.33 b	1.69 \pm 0.14 c

3 讨论

植物的生长过程中将受到一系列不利因素的影响^[15]。对于大部分植物来说, 重金属胁迫, 尤其是 Cd, 将阻碍植物对必需营养元素的吸收, 造成光合作用、碳、氮以及硫代谢的紊乱^[1], 从而抑制植物的生长, 降低植物的生物量^[16]。本研究发现, Cd 培养圆锥南芥, 生物量、叶片数、直径长随着 Cd 添加浓度升高而增加, 表明 Cd 不但没有抑制圆锥南芥的生长, 还促进了生长, 这可能是超富集植物的共性。如 Zn 超富集植物 *T. caerulescens* 在土壤 Zn 含量由 0 增加到 75 mg kg^{-1} 时, 地上部生物量增加约 4 倍^[17]。Zn 的超富集植物长柔毛委陵菜在 Zn 处理浓度为 160 mg L^{-1} (水培) 时生物量较对照增加了 66.6%^[18]。研究发现 GS 活性与生物量之间存在负相关^[19,20], 本研究也发现圆锥南芥叶片中 GS 活性与生物量之间的相关系数为 -0.34, 但无显著相关

性 ($p > 0.05$), 表明 GS 在植物生长过程中有着重要作用, 但对于超富集植物圆锥南芥来说, Cd 是影响生物量的最主要因素。

Cd 抑制 NR 活性在菜豆和其他植物中已有报道^[1,3~5]。植物中 Cd 的累积不仅影响 NR 活性而且还影响硝酸盐还原成亚硝酸盐的过程, NR 活性的高低与硝酸盐含量密切相关^[21,22]。Cd 显著影响植物对硝态氮的吸收以及硝酸盐的转运效率^[1], Cd 对硝酸盐吸收以及转运速率的抑制导致 NR 基因转录速率的降低。NO₃⁻ 含量的降低将抑制 NR mRNA 水平, 从而不利于 NR 的合成^[23]。植物吸收的硝酸盐在一系列反应之后被还原成铵, 而铵的初始同化发生在 GS-GOGAT 循环中, 高等植物体内 95% 以上的 NH_4^+ 通过 GS-GOGAT 循环同化^[24]。Cd 显著抑制 GS 和 GOGAT 活性^[3~5] 表明 Cd 有可能抑制了氮同化, 因为 GS 和 GOGAT 参与光呼吸产生的铵循环^[25]。GS 与 GOGAT 活性降低后, 会抑制谷氨酸的产生, 此时, GDH 可补充谷氨酸库, 降低铵的毒害。Cd 胁迫

会产生活性氧类物质,植物可通过提高体内脯氨酸含量来进行保护^[26]。活性氧的产生会使酶分解量增加,自由基能通过与活性氧反应直接引起蛋白质分解或通过增加蛋白水解酶活性间接引起蛋白质分解,降低蛋白质含量^[27]。不仅如此,Cd 离子也可能通过与-SH 结合而影响一些酶的活性,使酶失活^[28]。对超富集植物圆锥南芥的研究结果表明,在 Cd 添加浓度为 0~80 mg kg⁻¹ 时,叶片中 Cd 含量低于 45 mg kg⁻¹,在 Cd 添加浓度为 160 和 240 mg kg⁻¹ 时,叶片中 Cd 含量分别达到 242 和 451 mg kg⁻¹。NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 呈先降低后升高的变化趋势,这与 Cd 处理豆类植物,铵态氮含量成倍增长的结果不一致。在 Cd 处理浓度为 10~160 mg kg⁻¹ 时,NR 活性与对照间无显著性差异;GS 与 COGAT 活性在 Cd 处理浓度为 10~240 mg kg⁻¹ 时,与对照间无显著性差异,这与 Cd 显著抑制玉米^[31]、豌豆^[41]、小白菜^[5] GS、COGAT、NR 活性的结论不一致。圆锥南芥的可溶性蛋白质含量在 Cd 处理浓度为 10~240 mg kg⁻¹ 时与对照间的差异不显著,这与 Cd 处理显著降低水生花生可溶性蛋白质的研究结果相矛盾^[29]。在高浓度 Cd 处理时(240 mg kg⁻¹),圆锥南芥的 NR、GS、COGAT 等酶的活性均低于对照,而圆锥南芥的生物量此时达到最大值。这些结果证明与超富集植物的独特解毒机制一样,其代谢过程与普通植物也存在明显的差别。超富集植物通过将体内大部分重金属储存于细胞壁中,或与有机酸和蛋白质络合,或通过叶片非生理活动区的区室化来减少金属对其的毒性和对正常代谢过程的影响^[8~10]。除此之外,还可能与植物体内的 N、P、S、C 等元素的组成变化相关,这有待进一步深入研究。

4 结 论

1) 10~240 mg kg⁻¹ 的 Cd 处理促进了超富集植物圆锥南芥的生长,提高了圆锥南芥的生物量。

2) 10~160 mg kg⁻¹ 的 Cd 处理不会影响超富集植物圆锥南芥的氮素代谢,240 mg kg⁻¹ 的 Cd 处理降低了叶片中硝酸还原酶的活性,造成了超富集植物圆锥南芥叶片中铵态氮与硝态氮的累积。

参 考 文 献

- [1] Guia H, Ghorbal M H, Meyer C. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiol. Biochem.*, 2000, 38: 629~638
- [2] Hernández L E, Garate A, Carpenar Ruiz R. Effects of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum*. *Plant Soil*, 1997, 189: 97~106
- [3] Boussama N, Ouariti O, Suzuki A, et al. Cd stress on nitrogen assimilation. *J. Plant Physiol.*, 1999, 155: 310~317
- [4] Chugh L K, Gupta V K, Sawhney S K. Effect of cadmium on enzymes of nitrogen metabolism in pea seedlings. *Phytochemistry*, 1992, 31: 395~400
- [5] 孙光闻,陈日远,刘厚诚,等. 镉对植物光合作用及氮代谢影响研究进展. *中国农学通报*, 2005, 21(9): 234~236. Sun G W, Chen R Y, Liu H C, et al. Advances on investigation of effect of cadmium on photosynthesis and nitrogen metabolism of plant (In Chinese). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(9): 234~236
- [6] Salt D E, Blaylock M, Kumar N P B A, et al. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 1995, 13: 468~474
- [7] Brooks R R. *Plant that Hyperaccumulate Heavy Metals*. UK: CAB International Wallingford Oxon, 1998. 392
- [8] Clemens S, Palmgren M G, Krämer U. A long way ahead: Understanding and engineering plant metal accumulation. *Plant Sci.*, 2002, 7:309~315
- [9] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 1~11
- [10] Baker A J M. Metal tolerance. *New Phytol.*, 1987, 106:93~111
- [11] 汤叶涛,仇荣亮,曾晓雯,等. 一种新发现的多金属超富集植物——圆锥南芥. *中山大学学报*, 2005, 44(4): 135~136. Tang Y T, Qiu R L, Zeng X W, et al. A new found Pb/ Zn/ Cd hyperaccumulator *Arabis paniculata* F (In Chinese). *Acta Scientiarum Naturalium Uniersitatis Sunyatseni*, 2005, 44(4): 135~136
- [12] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 152~158. Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy Sciences. ed. *Experimental Guidebook of Modern Plant Physiology* (In Chinese). Beijing: Science Press, 1999. 152~158
- [13] Sánchez E, Rivero R M, Ruiz J M, et al. Changes in biomass, enzymatic activity and protein concentration in roots and leaves of green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) under high NH₄NO₃ application rates. *Scientific Horticulture*, 2004, 99: 237~248
- [14] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化试验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 125~128. Li H S, Sun Q, Zhao S J, et al. *Theory and Technique of Plant Physiological and Biochemical Experiments* (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 2000. 125~128
- [15] 李志博,骆永明,宋静,等. 土壤重金属污染的生态风险评估分析: 个案研究. *土壤*, 2006, 38(5): 565~570. Li Z B, Luo Y M, Song J, et al. Ecological risk assessment of heavy metal polluted soil: A case study (In Chinese). *Soils*, 2006, 38(5): 565~570
- [16] Chaoui A, Ghorbal M H, Ferjani E. Effects of cadmium-zinc interactions on hydroponically grown bean (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Sci.*, 1997, 127: 139~147

- [17] Ozturk L, Karanlik S, Ozkutlu F, *et al.* Shoot biomass and zinc/cadmium uptake for hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species in response to growth on a zinc deficient calcareous soil. *Plant Science*, 2003, 164: 1 095 ~ 1 101
- [18] Qiu R L, Fang X H, Tang Y T, *et al.* Zinc hyperaccumulation and uptake by *Potentilla griffithii* Hook. *International Journal of Phytoremediation*, 2006, 8(4): 299 ~ 310
- [19] Limami A, Phillipson B, Hirel B. Does root glutamine synthetase control plant biomass production in *Lotus japonicus* L. ? *Planta*, 1999, 209: 495 ~ 502
- [20] Lu B B, Yuan Y Z, Zhang C F, *et al.* Modulation of key enzymes involved in ammonium assimilation and carbon metabolism by low temperature in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Plant Science*, 2005, 169: 295 ~ 302
- [21] Duan Y H, Zhang Y L, Shen Q R, *et al.* Nitrate effect on rice growth and nitrogen absorption and assimilation at different growth stages. *Pedosphere*, 2006, 16(6): 707 ~ 717
- [22] 董园园, 董彩霞, 卢颖林, 等. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 部分代替 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 对番茄生育中后期氮代谢相关酶活性的影响. *土壤学报*, 2006, 43(2): 261 ~ 266. Dong Y Y, Dong C X, Lu Y L, *et al.* Influence of partial replacement of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ with $\text{NO}_3^-\text{-N}$ in nutrient solution on enzyme activity in nitrogen assimilation of tomato at different growing stages (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(2): 261 ~ 266
- [23] Tischer R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant Cell and Environment*, 2000, 23: 1 005 ~ 1 024
- [24] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 高等植物 GS/COGAT 循环研究进展. *植物营养与肥料学报*, 2001, 7(2): 223 ~ 231. Mo L Y, Wu L H, Tao Q N. Research advances on GS/COGAT cycle in higher plants (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2001, 7(2): 223 ~ 231
- [25] Lea J P, Robinson S A, Steward G R. The enzymology and metabolism of glutamine, glutamate and asparagines. In: Miflin P J, Lea J P. *The Biochemistry of Plants*. New York: Academic Press, 1990. 121 ~ 159
- [26] 罗玉明, 保曙琳, 丁秉中, 等. 稀土元素铈缓解镉对菱叶的毒害效应研究. *土壤学报*, 2006, 43(5): 808 ~ 813. Luo Y M, Bao S L, Ding B Z, *et al.* Moderating effects of cerium on Cd toxication of *Trapa bispinosa* leaves (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(5): 808 ~ 813
- [27] Chia L S, McRae D G, Thompson J E. Light dependence of paraquat initiated membrane deterioration in bean plants: Evidence for the involvement of superoxide. *Physiol. Plant*, 1982, 56: 492 ~ 499
- [28] van Assche F, Clijsters H. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell and Environment*, 1990, 13: 195 ~ 206
- [29] 周红卫, 施国新, 徐勤松. Cd^{2+} 污染水质对水生根系抗氧化酶活性和超微结构的影响. *植物生理学通讯*, 2003, 39(3): 211 ~ 214. Zhou H W, Shi G X, Xu Q S. Effects of Cd^{2+} polluted water on the activities of antioxidant enzymes and ultrastructure in roots of *Alternanthera philoxeroides* (In Chinese). *Plant Physiology Communications*, 2003, 39(3): 211 ~ 214

EFFECTS OF CADMIUM ON ACTIVITIES OF KEY NITROGEN METABOLISM ENZYMES IN LEAVES OF ARABIS PANICULATA FRANCH

Yu Fangming¹ Qiu Rongliang^{1,2†} Zhou Xiaoyong¹ Ying Rongrong¹ Tang Yetao^{1,2} Zhao Xuan¹
Hu Pengjie¹ Zeng Xiaowen¹

(1 School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

(2 Guangdong Province Key Laboratory for Environmental Pollution Control and Remediation Technology, Guangzhou 510275, China)

Abstract Effects of cadmium (Cd) on activities of key nitrogen metabolism enzymes in leaves of *Arabis paniculata* F. were studied. *Arabis paniculata* F., a newly identified hyperaccumulator, was grown in soils varying in Cd content (0, 10, 20, 40, 80, 160 and 240 mg kg⁻¹) for 135 days. Plants were analyzed for contents of $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, soluble protein, proline and activities of nitrate reductase (NR), glutamine synthetase (GS), glutamate synthase (COGAT), glutamate dehydrogenase (GDH). Results show that the biomass of *Arabis paniculata* F. increased with the Cd concentration in the soil and reached the highest in the treatment of 240 mg kg⁻¹. In the treatments with Cd content varying from 10 to 80 mg kg⁻¹, the contents of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in plant shoots were lower than in the control but did not show any significant variance ($p > 0.05$), while in the treatments above 80 mg kg⁻¹ Cd, both the contents of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ increased with the Cd concentration. Compared with the control, the treatments of Cd varying between 10 ~ 160 mg kg⁻¹ did not show any significant variance ($p > 0.05$) in NR activity, but NR activity reduced sharply to 67% of the control in Treatment 240 mg kg⁻¹ Cd. Furthermore, the activities of GS, COGAT and soluble protein in all the Cd treatments showed no significant variance ($p > 0.05$) from the control. The GDH activity increased with the Cd concentration from 10 to 80 mg kg⁻¹ and then decreased dramatically when above 80 mg kg⁻¹. Compared with that of the control, the contents of free proline increased obviously in the Cd treatments except in treatment 10 mg kg⁻¹ Cd.

Key words *Arabis paniculata* F.; Cadmium; Nitrogen metabolism; Enzyme activity