

Cd 对小白菜生长及氮素代谢的影响研究

于方明^{1,3}, 仇荣亮^{1,2*}, 汤叶涛^{1,2}, 应蓉蓉¹, 周小勇¹, 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; 3. 广西师范大学环境与资源学院, 桂林 541004)

摘要: 采用水培的方法, 研究了不同 Cd^{2+} 水平 ($0, 1, 2, 5, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对小白菜叶片中铵态氮、硝态氮、可溶性蛋白质、游离脯氨酸、叶绿素、部分营养元素含量以及蛋白水解酶、硝酸还原酶、谷氨酰胺转化酶与合成酶活性的影响。结果表明, 低浓度的 Cd 处理 ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 刺激了小白菜的生长, 提高了小白菜的生物量、叶绿素含量以及硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶与转化酶活性。Cd 处理降低了小白菜对 Cu、Ca、Fe、Mg 的吸收, 但促进了 P 的吸收。10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd 处理显著降低了可溶性蛋白质含量、硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和转化酶活性 ($p < 0.05$), 提高了蛋白水解酶活性, 不利于叶片中铵态氮与硝态氮的同化, 造成叶片中铵态氮和硝态氮的累积。小白菜叶片中游离脯氨酸含量与铵态氮含量成极显著正相关 ($p < 0.01$), 说明小白菜叶片中游离脯氨酸的累积在一定程度上缓解了铵的毒害。

关键词: Cd; 小白菜; 氮素代谢; 酶活性

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)02-0506-06

Effects of Cadmium on the Growth and Nitrogen Metabolism in *Brassica chinensis*

YU Fang-ming^{1,3}, QIU Rong-liang^{1,2}, TANG Ye-tao^{1,2}, YING Rong-rong¹, ZHOU Xiao-yong¹, ZHAO Xuan¹, HU Peng-jie¹, ZENG Xiao-wen¹

(1. School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Environmental Pollution Control and Remediation Technology, Guangzhou 510275, China; 3. School of Resource and Environment, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: Hydroponic culture was conducted to study the effect of Cd on the growth, metal accumulation and nitrogen metabolism in *Brassica chinensis*. The enzymatic activities of nitrogen metabolism including nitrate reductase (NR), glutamine synthetase (GS) and GS-transferase as well as the concentrations of chlorophyll, free proline, soluble protein, NO_3^- -N, NH_4^+ -N and nutrients in *Brassica chinensis* were determined. Results indicated that the addition of Cd reduced the content of the soluble protein and the accumulation of Cu, Ca, Fe and Mg, but promoted the P uptake. Low level of Cd ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) could significantly increase the biomass and the content of chlorophyll of *Brassica chinensis* and the activities of NR, GS and GS-transferase when compared to control plants. However, when the Cd levels were above $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in the culture medium, the activities of these enzymes were inhibited. Accordingly, the contents of NO_3^- -N, NH_4^+ -N, free proline and the activity of protease in the leaf of *Brassica chinensis* increased significantly. These results suggested that Cd addition could interfere with the assimilation of N in *Brassica chinensis*. The increase of free proline might alleviate the toxicity of ammonium in *Brassica chinensis*.

Key words: Cd; *Brassica chinensis*; nitrogen metabolism; enzymatic activity

Cd 对植物具有明显的毒害作用, 过量的 Cd 不仅会影响植物的正常生长发育, 使农作物产量降低, 还易累积于植物的可食部位, 使农产品质量下降。如有研究表明 Cd 胁迫可以抑制水稻幼株的生长, 降低株高、根长和根系活力, 减少根数^[1], 阻碍必需元素的吸收。同时, Cd 还可以通过影响游离氨基酸、可溶性蛋白含量以及植物体内的酶系统而扰乱植物的各种生理生化代谢过程^[2,3]。硝酸还原酶 (nitrate reductase, NR) 是植物同化硝酸盐的限速酶, 高浓度的 Cd 显著抑制了水稻^[1]、玉米^[4]、豌豆^[5] NR 活性, 降低了硝酸盐还原成亚硝酸盐的效率, 从而导致硝酸盐在植物体内的累积。但不同植物的 NR 对 Cd 的响应不同, 高浓度的镉能诱导沉水植物硝酸还原酶活性的提高^[6], 彭伟正等^[7]发现 Cd 处理提高了黄瓜

NR 活性。植物吸收的硝酸盐在一系列反应之后被还原成铵, 其中谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GS) 和谷氨酸合酶 (glutamate synthase, GOGAT) 在铵同化过程中起到关键作用, 高等植物体内 95% 以上的 NH_4^+ 通过 GS-GOGAT 循环同化^[8]。Cd 胁迫下 GS 和 GOGAT 活性常受到不同程度的抑制, 从而造成谷氨酸含量的降低和铵态氮的累积^[9]。此外, Cd 还会抑制植物叶绿素的合成, 降低对 Zn、K、Mn 等必需营

收稿日期: 2007-03-20; 修订日期: 2007-06-02

基金项目: 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); 教育部“985”二期项目; 广西师范大学博士启动基金项目

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
* 通讯联系人, E-mail: eesqrl@mail.sysu.edu.cn

养元素的吸收^[10].

小白菜作为人们主食的蔬菜之一,对 Cd 也有较强的吸收能力,并以其生长速度快、生物量大,而具有极大的修复重金属污染土壤的潜力^[11]. 因此为更好地了解小白菜的修复潜力,利用其对重金属污染土壤进行修复,发挥其更大的经济效益,对其生理机制的研究显得尤为重要. 目前,对氮素代谢的研究集中在盐胁迫^[8,12]、肥料配比改变上^[13],但对在重金属胁迫下,氮素代谢等方面的研究报道较少^[14]. 为此,本研究通过水培的方式,探讨了 Cd 对小白菜叶片中营养元素、铵态氮、硝态氮含量以及氮素代谢关键酶活性等的影响,旨在为进一步探讨重金属污染对小白菜生理生化机制变化过程提供参考.

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物为青江白菜 (*Brassica chinensis*),由广东省农业科学院蔬菜研究所提供.

1.2 试验处理

小白菜种子经消毒后于营养土中育苗,去离子水浇灌,湿度保持在 60% 田间持水量. 32 d 后,选取长势良好、大小一致的小白菜幼苗(株高 11 cm 左右,5 片真叶)移入 Hoagland 营养液中培养,营养液组成为: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.0 mmol·L⁻¹, KH_2PO_4 0.10 mmol·L⁻¹, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.50 mmol·L⁻¹, KCl 0.10 mmol·L⁻¹, K_2SO_4 0.70 mmol·L⁻¹, H_3BO_3 10.00 μmol·L⁻¹, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.50 μmol·L⁻¹, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.50 μmol·L⁻¹, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.20 μmol·L⁻¹, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 0.01 μmol·L⁻¹, Fe-EDTA 100 μmol·L⁻¹, 用 0.1 mmol·L⁻¹ NaOH 调节 pH 至 5.7 左右. 添加 Cd 前于营养液中预培养 3 d,待生长良好、未出现任何不良症状后,添加 Cd 继续培养 12 d, Cd 添加水平为 0、1、2.5、5、10 mg·L⁻¹ (以 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 加入,单 Cd²⁺ 计算,设 Cd 添加浓度为 0 的处理为对照). 每盆 3 株,重复 3 次. 每 3 d 更换 1 次营养液,并保持连续通气. 整个试验在光照培养箱中完成,光照 14 h,温度为 28℃,光照强度为 150 μmol·(m²·s)⁻¹; 黑暗 10 h,温度为 16℃,相对湿度为 60% ~ 70%.

1.3 测定方法

1.3.1 酶液的提取与活性测定

硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酰胺转化酶的提取与活性测定参照文献[15]的方法完成. 硝酸还原酶活性以 1 h 内还原 KNO₃ 生成 NO₂⁻ 的 μg

数表示酶活力. 谷氨酰胺合成酶和转化酶的 1 个酶活性单位为 1 h 内形成 1 μmol γ-谷氨酰基羟肟酸的酶量. 蛋白水解酶的提取与活性测定参照文献[16]的方法进行,以 1 h 内生成 10 μg 酪氨酸的酶量作为 1 个酶活性单位.

以上酶的提取与测定均在 0 ~ 4℃ 条件下完成,每处理至少 3 次重复.

1.3.2 氮素含量、游离脯氨酸、可溶性蛋白质和叶绿素含量的测定

小白菜叶片中可溶性蛋白质、铵态氮、硝态氮、叶绿素以及游离脯氨酸含量的测定,参照文献[17]的方法完成.

1.3.3 Cd 及营养元素含量测定

称取 0.250 g 烘干且磨碎的小白菜于 100 mL 三角瓶中,加入 10 mL HNO₃-HClO₄, 200 ~ 220℃ 消煮至澄清^[18],用去离子水定容后采用原子吸收分光光度计(AAS, HITACHI-Z5000)测定,同时用标准样(西红柿叶, ESP-1, 中国环境监测总站)进行质量控制. P 含量采用文献[19]的方法测定. 所有数据用 SPSS11.5 软件处理. 以上测定至少 3 次重复.

2 结果与分析

2.1 不同 Cd 水平对小白菜生物量以及 Cd 含量的影响

从表 1 中可以看出,小白菜的生物量随着 Cd 处理浓度的增加,呈先升高后降低的变化趋势. 1 mg·L⁻¹ 的 Cd 处理显著增加了小白菜的生物量($p < 0.05$),同时生物量达到最大值 1.28 g·株⁻¹,为对照的 1.29 倍,表明低浓度的 Cd 有促进小白菜生长的作用. 在 Cd 处理为 10 mg·L⁻¹ 时,生物量最小,仅有对照的 55.6%. 根系与叶片中的 Cd 含量随着 Cd 处理浓度的增加而增加,且处理间的差异显著($p < 0.05$),但根系中 Cd 含量远远高于地上部.

表 1 不同 Cd 水平对小白菜生物量以及 Cd 含量的影响¹⁾

Table 1 Effects of different Cd levels on the biomass and content of Cd in *Brassica chinensis*

Cd /mg·L ⁻¹	Cd 含量(干重)/mg·kg ⁻¹		生物量(干重) /g·株 ⁻¹
	地上	根	
0	0.05 ± 0.04 e	0.09 ± 0.05 d	0.99 ± 0.05 b
1	65.5 ± 10.1 d	152.6 ± 25.6 c	1.28 ± 0.15 a
2.5	311.7 ± 27.9 c	765.4 ± 42.7 b	0.79 ± 0.05 c
5	405.1 ± 17.4 b	1 538.2 ± 121.5 a	0.56 ± 0.15 d
10	521.7 ± 22.7 a	1 659.4 ± 130.8 a	0.55 ± 0.09 d

1) 同列相同字母表示处理间在 5% 水平差异不显著,下同

2.2 Cd 对小白菜叶绿素含量的影响

从表 2 来看,加 Cd 后的第 2 d,除对照和 1 mg•L⁻¹ Cd 处理的小白菜生长良好外,其余处理培养的小白菜在光照时均有不同程度的萎焉,加 Cd 处理 7 d 后,10 mg•L⁻¹ Cd 处理的小白菜叶片出现明显的中毒症状,有针尖大小的黄色小斑出现,且明显失绿.在 Cd 的处理下,小白菜叶绿素 a、类胡萝卜

素、叶绿素 a + b 含量变化趋势相似,均是先升高后降低.在 Cd 处理浓度为 1 mg•L⁻¹时,叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、叶绿素 a + b 含量最高,分别比对照提高了 12.7%、16.8%、19.5%、13.9%.在 Cd 处理浓度为 10 mg•L⁻¹时,叶绿素 a、类胡萝卜素、叶绿素 a + b 含量最低,分别为对照的 50.4%、88.8%、51.9%、61.7%.

表 2 Cd 对小白菜叶绿素含量的影响(FW)/mg•kg⁻¹
Table 2 Changes in the chlorophyll content of *Brassica chinensis* leaves grown in different Cd treatments(FW)/mg•kg⁻¹

Cd/mg•L ⁻¹	叶绿素 a	叶绿素 b	类胡萝卜素	叶绿素 a + b	a/b
0	0.99 ± 0.22 ab	0.41 ± 0.10 ab	0.14 ± 0.03 ab	1.40 ± 0.32 ab	2.40 ± 0.06 a
1.0	1.11 ± 0.13 a	0.48 ± 0.05 a	0.16 ± 0.03 a	1.59 ± 0.18 a	2.31 ± 0.03 ab
2.5	0.71 ± 0.02 bc	0.31 ± 0.01 b	0.10 ± 0.00 bc	1.02 ± 0.03 bc	2.26 ± 0.02 bc
5.0	0.64 ± 0.04 c	0.30 ± 0.02 b	0.09 ± 0.00 bc	0.94 ± 0.06 c	2.16 ± 0.03 c
10	0.50 ± 0.03 c	0.37 ± 0.01 ab	0.07 ± 0.02 c	0.86 ± 0.03 c	1.36 ± 0.05 d

2.3 Cd 对小白菜地上部营养元素含量的影响

Cd 对小白菜营养元素含量的影响各异(表 3).5 和 10 mg•L⁻¹ 的 Cd 显著提高了小白菜地上部分对 Zn 的吸收($p < 0.05$),1 和 2.5 mg•L⁻¹ 的 Cd 则降低了地上部分对 Zn 的吸收,但差异不显著($p > 0.05$).与 Zn 相反,小白菜中 Mn 含量在 2.5 mg•L⁻¹ Cd 处

理下显著提高,而其它处理均有不同程度降低,但差异不显著.Cd 处理下小白菜地上部 Cu、Ca、Fe、Mg 含量均低于对照,其中 Fe、Mg 含量的降低达到显著水平($p < 0.05$).与其它元素不同,地上部 P 的含量随 Cd 处理浓度增加而增加,在 Cd 处理浓度为 5 和 10 mg•L⁻¹时,与对照间的差异显著($p < 0.05$).

表 3 不同 Cd 水平对小白菜营养元素含量的影响
Table 3 Concentrations of nutrients in *Brassica chinensis* under Cd exposure

Cd /mg•L ⁻¹	Zn (DW)/mg•kg ⁻¹	Mn (DW)/mg•kg ⁻¹	Cu (DW)/mg•kg ⁻¹	Fe (DW)/g•kg ⁻¹	Ca (DW)/g•kg ⁻¹	Mg (DW)/g•kg ⁻¹	P (DW)/g•kg ⁻¹
0	109.3 ± 5.17 b	3.02 ± 0.21 b	92.3 ± 6.20 a	0.67 ± 0.09 a	25.19 ± 1.70 a	5.14 ± 0.35 a	5.79 ± 0.39 c
1.0	89.5 ± 5.91 b	2.88 ± 0.19 b	72.0 ± 4.91 b	0.29 ± 0.02 bc	22.85 ± 1.54 ab	4.39 ± 0.30 b	6.41 ± 0.47 bc
2.5	77.1 ± 4.20 b	4.43 ± 0.30 a	88.6 ± 5.92 a	0.35 ± 0.02 b	16.42 ± 1.11 c	3.47 ± 0.23 c	6.99 ± 0.23 bc
5.0	209.4 ± 23.41 a	2.91 ± 0.19 b	49.42 ± 3.31 c	0.17 ± 0.01 d	21.90 ± 1.48 ab	4.28 ± 0.29 b	8.53 ± 0.57 a
10	237.4 ± 26.72 a	2.94 ± 0.19 b	58.8 ± 4.01 c	0.24 ± 0.02 cd	19.90 ± 1.34 bc	3.67 ± 0.25 bc	7.31 ± 0.49 ab

2.4 Cd 对小白菜叶片中硝态氮、铵态氮、可溶性蛋白质及游离脯氨酸含量的影响

在 Cd 处理下,小白菜叶片中硝态氮含量呈上升的变化趋势,与对照间的差异显著($p < 0.05$).Cd 处理浓度为 10 mg•L⁻¹时硝态氮含量最高,是对照的 5.7 倍.铵态氮含量在 Cd 处理浓度为 1 mg•L⁻¹时最低,而 2.5、5、10 mg•L⁻¹ Cd 处理使铵态氮含量分别比对照提高了 6.59、27.46、64.32 mg•kg⁻¹,其中 10

mg•L⁻¹Cd 处理显著增加了铵态氮含量($p < 0.05$).与铵态氮的变化趋势类似,小白菜叶片中游离脯氨酸含量同样在 Cd 处理浓度为 1 mg•L⁻¹时达到最低,而在 Cd 处理浓度为 10 mg•L⁻¹时最高,为对照的 2.2 倍,脯氨酸含量与铵态氮含量成极显著正相关($r = 0.68$, $p < 0.01$, $n = 15$).可溶性蛋白质含量随着 Cd 处理浓度的增加呈下降的变化趋势,在 Cd 处理浓度为10mg•L⁻¹时,小白菜叶片中蛋白质含量比

表 4 Cd 对小白菜叶片中铵态氮、硝态氮、可溶性蛋白质以及游离脯氨酸含量的影响
Table 4 Effects of Cd addition on contents of NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, soluble protein and free proline in leaves of *Brassica chinensis*

Cd/mg•L ⁻¹	铵态氮 (FW)/mg•kg ⁻¹	硝态氮 (FW)/mg•kg ⁻¹	可溶性蛋白质 (FW)/g•kg ⁻¹	游离脯氨酸 (FW)/mg•kg ⁻¹
0	238.6 ± 19.8 b	107.1 ± 28.1 d	29.7 ± 2.7 a	16.0 ± 0.6 c
1.0	228.8 ± 14.3 b	232.2 ± 26.6 c	26.2 ± 5.0 ab	12.0 ± 0.1 d
2.5	245.2 ± 27.6 b	470.2 ± 19.7 b	22.5 ± 0.6 b	25.2 ± 0.3 b
5.0	266.1 ± 20.2 ab	468.2 ± 15.6 b	22.3 ± 1.0 b	33.9 ± 0.6 a
10	303.0 ± 29.1 a	610.8 ± 32.3 a	17.4 ± 0.6 c	34.9 ± 2.1 a

对照降低了 41.5%, 且差异显著($p < 0.05$).

2.5 不同 Cd 水平对小白菜叶片中氮代谢关键酶活性的影响

随着 Cd 处理浓度的增加, 小白菜叶片中蛋白水解酶的活性呈上升的变化趋势, 在 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理时, 蛋白水解酶活性比对照提高了 39.6%. 硝酸还原酶活性在 Cd 处理浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时出现最大值, 为对照的 1.3 倍. 当 Cd 处理浓度 $\geq 2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时硝酸还原酶活性均低于对照, 在 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理时, 比对照降低了 36%. 谷氨酰胺合成酶与转化酶活性的变化趋势与硝酸还原酶的变化趋势相似.

表 5 不同 Cd 水平对小白菜氮代谢关键酶活性的影响

Table 5 Effects of different Cd levels on the activities of key enzymes of nitrogen metabolism in leaves of *Brassica chinensis*

Cd / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	蛋白水解酶活性 ¹⁾ / $\text{U}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$	硝酸还原酶活性 (NO_2^-)/ $\mu\text{g}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$	谷氨酰胺合成酶 / $\mu\text{mol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$	谷氨酰胺转化酶 / $\mu\text{mol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$
0	$10.6 \pm 1.4\text{ c}$	$15.0 \pm 0.1\text{ b}$	$42.9 \pm 2.5\text{ a}$	$28.2 \pm 3.6\text{ b}$
1.0	$11.6 \pm 1.2\text{ bc}$	$19.4 \pm 0.1\text{ a}$	$43.3 \pm 7.4\text{ a}$	$37.8 \pm 6.3\text{ a}$
2.5	$13.0 \pm 1.3\text{ abc}$	$14.8 \pm 1.1\text{ b}$	$40.3 \pm 3.7\text{ ab}$	$28.0 \pm 1.3\text{ bc}$
5.0	$14.2 \pm 1.4\text{ ab}$	$14.0 \pm 1.1\text{ b}$	$35.0 \pm 2.0\text{ bc}$	$24.5 \pm 0.7\text{ bc}$
10	$14.8 \pm 1.9\text{ a}$	$9.6 \pm 1.3\text{ c}$	$32.0 \pm 3.2\text{ c}$	$21.0 \pm 3.5\text{ c}$

1) U 表示 $10\text{ }\mu\text{g}$ 酪氨酸

3 讨论

植物对 Cd 的吸收、转运和累积受多种因素的影响, 如土壤类型、土壤环境条件和土壤中的 Cd 浓度以及共存离子的种类和浓度等, 但最主要的还是取决于植物的种类和环境中的 Cd 浓度. 本研究结果表明, 小白菜的地上部与根系中 Cd 含量随 Cd 处理浓度的增加而增加, 但根系中 Cd 含量远远高于地上部, 这与许多农作物的研究结果相似^[20]. 在 Cd 处理下, $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cd 促进了小白菜的生长, 但随后随着 Cd 处理浓度的增加, 小白菜生物量显著降低, 并出现不同程度的萎蔫、失绿. 叶绿素含量随着 Cd 处理浓度的增加而下降, 表明 Cd 处理影响了色素的合成, 可能破坏小白菜的光合作用. Cd 导致叶绿素含量下降的可能原因在于 Cd 与叶绿体中富含巯基(—SH)的蛋白质结合, 取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 等, 直接破坏叶绿体微结构, 抑制叶绿素前体的合成, 促进叶绿素分解, 从而降低叶绿素的含量^[21]. 有学者认为, 叶绿素 a/b 值随着叶片衰老而下降, 可以作为叶片衰老的指标^[22]. 本研究结果表明, 叶绿素 a/b 值随 Cd 处理浓度的升高而降低, 这说明 Cd 处理加速了小白菜叶片的衰老. 植物的生长与谷氨酰胺合成酶活性有密切联系, 谷氨酰胺合成酶活性被认为是植物生长的主要限制因子之一^[23]. 本研究发

当 Cd 浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时谷氨酰胺合成酶与转化酶活性最高, 谷氨酰胺转化酶活性比对照提高了 34.0%. 当 Cd 处理浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时谷氨酰胺合成酶与转化酶活性最低, 分别为对照的 74.6% 和 74.5%. 方差分析与多重比较结果表明, 在 Cd 处理浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 小白菜叶片中蛋白水解酶、硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶与转化酶活性与对照间的差异显著($p < 0.05$), 表明 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理抑制了小白菜叶片中硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶与转化酶活性, 不利于铵态氮与硝态氮的同化, 这可能是造成叶片中铵态氮与硝态氮累积的原因.

现, 谷氨酰胺合成酶与生物量之间表现出了相似的变化规律, 在 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理时谷氨酰胺合成酶活性最高, 生物量也最大, 随着 Cd 处理浓度的增加, 两者均呈下降的趋势, 但生物量的变化值比谷氨酰胺合成酶活性变化要大, 说明虽然谷氨酰胺合成酶活性虽然与生长关系密切, 但在 Cd 处理下, 两者之间的变化趋势不完全一致.

Cd 浓度的增加将干扰植物对必需营养元素的吸收^[20]. 本研究发现, Cd 处理降低了小白菜对 Cu、Ca、Fe、Mg 的吸收, 这与 Sandalio 等^[10]对豌豆的研究结果相似, 这可能与 Cd 占据了其吸附位点有关. 但与此相反, 小白菜中 P 含量随着 Cd 处理浓度的增加而增加, 表明 P 在解毒 Cd 毒害方面起重要作用^[24]. 当 Cd 进入叶片后, 会与细胞膜蛋白的一SH 结合或与磷脂分子层的磷脂类物质反应, 从而降低 Cd 的毒害.

本试验结果表明, 在 Cd 处理浓度为 $2.5 \sim 10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 游离脯氨酸含量与对照间的差异显著, 可溶性蛋白质含量下降, 蛋白水解酶活性增加, 这些结果表明, Cd 处理影响了小白菜体内的物质代谢过程. Cd 胁迫会产生活性氧类物质, 植物可通过提高体内抗氧化酶活性以及脯氨酸含量来进行保护^[25-26]. 活性氧的产生会使酶分解量增加, 植物体内的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^[21],NR便是一种含—SH 的黄素蛋白酶,Cd 可以通过与—SH结合而使 NR 失活.硝酸还原酶活性的降低,除了与其是富含—SH 的酶有关外,还与 Cd 累积抑制硝酸还原酶基因的表达有关^[9,21].本研究发现,10 mg•L⁻¹ Cd 处理时,降低了小白菜叶片中硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶与转化酶活性,造成叶片中铵态氮与硝态氮的累积,这与 Cd 处理豌豆与玉米所得的结果一致^[4,5].造成小白菜硝态氮累积的主要原因是小白菜 NR 活性的降低.硝酸还原酶是硝态氮转化的关键酶,NR 活性的降低使得硝酸盐向亚硝酸盐转化的过程受阻,从而造成叶片中大量硝酸盐的累积.同时,金属胁迫将抑制谷氨酰胺合成酶与转化酶底物的产生^[28],导致谷氨酰胺合成酶与转化酶活性降低,造成 NH₄⁺ 同化循环途径 GS-GOGAT 受阻^[29],使小白菜中大量的铵不能被同化,造成铵态氮的累积.铵态氮的累积将导致植物体中谷氨酸合成受阻,产生铵毒害.此时植物通过提高谷氨酸脱氢酶活性以及脯氨酸含量补充谷氨酸库,降低铵的毒害^[30].研究结果表明脯氨酸不仅起渗透调节作用,还在过量铵的同化,氮的贮存与转化方面起着重要作用^[12].本研究结果表明,小白菜叶片中游离脯氨酸含量与铵态氮含量成极显著正相关($p < 0.01$),说明小白菜叶片中游离脯氨酸的累积在一定程度上缓解了铵的毒害.

4 结论

(1)在水培条件下,低浓度 Cd 处理(1 mg•L⁻¹)可以刺激小白菜的生长,提高小白菜的生物量以及叶绿素含量.

(2)大于 2.5 mg•L⁻¹ Cd 处理抑制了小白菜的生长,降低了叶绿素含量.10 mg•L⁻¹ 的 Cd 降低了硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和转化酶活性,提高了蛋白水解酶活性,不利于叶片中铵态氮与硝态氮的同化.

(3)Cd 处理阻碍了小白菜对 Cu、Ca、Fe、Mg 的吸收,但促进了对 P 的吸收;游离脯氨酸的累积在一定程度上缓解了铵的毒害.

参考文献:

- [1] 白嵩,纪秀娥,白岩,等.水体镉污染对水稻幼株生长及某些生理特性的影响[J].吉林农业大学学报,2004,26(3): 245-247.
- [2] Hernandez L E, Garate A, Carpena-Ruiz R. Effects of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum* [J]. Plant and Soil, 1997, 189: 97-106.

- [3] Hou W H, Chen X, Song G L, et al. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted water body restoration by duckweed (*Lemna minor*) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2007, 45: 62-69.
- [4] Boussama N, Ouariti O, Suzuki A, et al. Cd-stress on nitrogen assimilation [J]. Plant Physiology, 1999, 155: 310-317.
- [5] Chugh L K, Gupta V K, Sawhney S K. Effect of cadmium on enzymes of nitrogen metabolism in pea seedlings [J]. Phytochemistry, 1992, 31: 395-400.
- [6] 陈愚,任久长,蔡晓明.镉对沉水植物硝酸还原酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J].环境科学学报,1998,18(3):313-317.
- [7] 彭伟正,王克勤,胡蝶,等.镉在黄瓜植株体内分布规律及其对黄瓜生长和某些生理特性的影响[J].农业环境科学学报,2006,25(增刊):92-95.
- [8] Debouba M, Gouia H, Suzuki A, et al. NaCl stress effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato "*Lycopersicon esculentum*" seedlings [J]. Journal of Plant Physiology, 2006, 163: 1247-1258.
- [9] Gouia 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 [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2000, 38: 629-638.
- [10] Sandalio L M, Dalurzo H C, Gomez M, et al. Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52: 2115-2126.
- [11] 方晓航,曾晓雯,于方明,等. Cd 胁迫对小白菜生理特征及元素吸收的影响研究[J].农业环境科学学报,2006,25(1): 25-29.
- [12] Zhou W, Sun Q J, Zhang C F, et al. Effect of salt stress on ammonium assimilation enzymes of the roots of rice (*Oryza sativa*) cultivars differing in salinity resistance [J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(8): 921-927.
- [13] 董园园,董彩霞,卢颖林,等. NH₄⁺-N 部分代替 NO₃⁻-N 对番茄生育中后期氮代谢相关酶活性的影响[J].土壤学报,2006,43(2):261-266.
- [14] 孙光闻,朱祝军,方学智.不同 Cd 水平对小白菜生长及其营养元素含量的影响[J].农业环境科学学报,2005,24(4): 658-661.
- [15] 中国科学院上海植物生理研究所.现代植物生理实验指南[M].北京:科学出版社,1999.152-158.
- [16] 韩雅珊.食品化学试验指导[M].北京:中国农业大学出版社,1995.
- [17] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.125-128.
- [18] Zhao F J, Megath S P, Grossland A D. Comparison of three wet digestion methods for the determination of plant sulphur by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES) [J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1994, 25: 407-418.
- [19] 鲁如坤.土壤农业化学分析法[M].北京:北京农业科技出版社,1999.

[20] Ouariti O, Gouia H, Ghorbal M H. Responses of bean and tomato plants to cadmium: Growth, mineral nutrition, and nitrate reduction [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1997, **35**: 347-354.

[21] Peng L, Pardee A B. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction [J]. *Science*, 1992, **257**: 967-971.

[22] 江树业, 陈启锋. 利用 cDNA 技术分析籼稻光敏核不育基因的差别表达[J]. *科学通报*, 1998, **43**(23): 2521-2524.

[23] 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 [J]. *Plant Science*, 2005, **169**: 295-302.

[24] Cao X D, Ma L Q, Tu C. Antioxidative response to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2004, **128**: 317-325.

[25] 周青, 黄晓华, 刘小林. 酸雨对 3 种木本植物的胁迫效应 [J]. *环境科学*, 2002, **23**(5): 42-46.

[26] Demiral T, Türkan I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, **53**: 247-257.

[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 [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1982, **56**: 492-499.

[28] Ruiz J M, Rivero R M, Romero L. Comparative effect of Al, Se, and Mo toxicity on NO₃ assimilation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants [J]. *Journal of Environmental Management*, 2007, **83**: 207-212.

[29] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 高等植物 GS-GOGAT 循环研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2001, **7**(2): 223-231.

[30] Brugière N, Dubois F, Limami A M, *et al*. Glutamine synthetase in the phloem plays a major role in controlling proline production [J]. *The Plant Cell*, 1999, **11**: 1995-2011.