

# 重金属与植物 N 素营养之间的交互作用及其生态学效应

祖艳群<sup>1</sup>, 李元<sup>1</sup>, L. BOCK<sup>2</sup>, C. SCHVARTZ<sup>3</sup>, G. COLINET<sup>2</sup>, 胡文友<sup>1</sup>

(1. 云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201; 2. Laboratoire de Géopédologie, Gembloux Agricultural University, Gembloux, Belgique; 3. Laboratoire sols et Environnement, Institut Supérieur d'Agriculture, Catholic University, Lille, France)

**摘要:**根据相关文献资料,论述了重金属与植物 N 素营养在土壤-植物系统间的交互作用及其广泛效应。一方面,重金属元素对植物 N 素营养的吸收、运输和代谢等产生一系列复杂的反应;另一方面,植物通过 N 代谢的调节而对重金属的吸收、运输和毒性产生适应和抗性。重金属与 N 素之间的交互作用对植物的生理代谢和遗传特征产生影响。合理利用二者之间的交互作用,将有助于通过 N 素调控防治或减轻重金属污染危害,为治理和修复重金属污染土壤提供理论基础。

**关键词:** 重金属; N 素营养; 交互作用; 生态学效应

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1672-2043(2008)01-0007-08

## Interactions Between Heavy Metals and Nitrogen and Their Ecological Effects

ZU Yan-qun<sup>1</sup>, LI Yuan<sup>1</sup>, L. BOCK<sup>2</sup>, C. SCHVARTZ<sup>3</sup>, G. COLINET<sup>2</sup>, HU Wen-you<sup>1</sup>

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Laboratoire de Géopédologie, Gembloux Agricultural University, Gembloux, Belgique; 3. Laboratoire sols et Environnement, Institut Supérieur d'Agriculture, Catholic University, Lille, France)

**Abstract:** The supply of one nutrient affects the absorption, distribution or function of another nutrient. Interactions between nutrients can either induce deficiencies or toxicities and can modify growth response. Interactions can occur between essential nutrients and heavy metals. Among nutrient elements, nitrogen is consumed in the most important for plant growth and productivity. On the one hand, heavy metals can affect nitrogen absorption, assimilation, transfer and metabolism. Absorption of ammonium and nitrate by most crop plants depends upon their concentration in the soil solution, which is determined mainly by the activity of ammonification and nitrification process. Heavy metals changed bacteria activity, resulting in the change of nitrate and ammonium concentration in the soil. The nitrogen uptake has been affected by heavy metals in the soil. Plasma membrane is the first place of metal action. The altered plasmalemma H<sup>+</sup>-ATPase function would also explain the metal-induced perturbation of the uptake of nitrogen. The heavy metal inhibition of particular enzymes of the nitrogen assimilatory pathway can alter the nitrogen uptake. A possible explanation could be a interaction between heavy metals and SH groups of the ammonium and nitrate transport proteins and the diminishing expression of the NRT and AMT1 genes. Heavy metals also affect allocation of nitrogen in plants. The nitrogen long distance transport via the xylem is mainly controlled by transpiration intensity. Diminishing of the transpiration effectiveness might explain the perturbations in nitrogen long distance transport. The influence of metals on nitrogen incorporation into amino acids may be due to the effect of the activity of many enzymes by heavy metals. Heavy metals generate the toxic oxygen species, which can cause the breakdown of enzyme proteins by oxidative reaction or by increasing the proteolytic activity. On the other hand, nitrogen may strongly influence the heavy metals absorption in plants by changing the rhizosphere pH. It has been shown that ammonium nutrition causes the net extrusion of protons and soil acidification, whereas nitrate nutrition leads to protons consumption increasing the soil pH. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> strongly reduces the uptake and accumulation of heavy metals whereas ammonium nutrition enhances their level in plants tissues. Plants could increase adaptation and tolerance to heavy metals through adjustment of nitrogen metabolism. In plant cells with heavy metals treatment, as a defense mechanism, the production of phytochelatins, peptides and proline, rich in cysteins residues, is observed. Proline-rich proteins may have important roles in increasing plant resistance to heavy metals. Interactions between heavy metal and nitrogen are very complex. The

收稿日期: 2007-04-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30560034); 云南省教育厅基金(5Y0178B); 云南省科技厅攻关项目(2006NG17)

作者简介: 祖艳群(1966—), 女, 硕士, 教授, 主要从事环境生态学和土壤重金属污染方面的教学与研究工作。E-mail: zuyanqun@yahoo.com.cn

联系方式: 李元 E-mail: liyuan03@yahoo.com.cn

complexity of the higher plant organism and all the aspects of its physiology and metabolism should be realized. With understanding the interaction between heavy metals and nitrogen, it is possible to provide scientific foundation for preventing and decreasing heavy metals contamination by nitrogen adjustment.

Keywords: heavy metal; nitrogen; interaction; ecological effects

重金属是重要的环境污染物,土壤中重金属污染对植物的影响引起广泛关注<sup>[1]</sup>。重金属的胁迫通常会导致植物矿质营养的缺乏,引起它们参与代谢和物质组成过程的紊乱失调,产生缺素症状<sup>[2]</sup>,成为植物氮、磷、钾等大量营养元素缺乏或有效性降低的主要原因<sup>[3,4]</sup>。同时,氮、磷、钾等大量营养的供应能缓解重金属对植物的胁迫作用<sup>[5]</sup>。

重金属与植物营养元素交互作用的研究一直是重金属污染生态学研究的前沿<sup>[6]</sup>。交互作用指在一定条件下,两个或多个元素的结合生理效应小于或超过它们各自效应之和,植物元素离子之间存在着交互作用关系<sup>[7]</sup>。离子的交互作用主要有拮抗作用和协同作用两类<sup>[8]</sup>。

N 素作为植物生长需要的最重要的大量营养元素之一,对植物的生长、代谢和遗传特征等都具有不可替代的作用。重金属与 N 素的交互作用表现在植物对元素的吸收、运输、代谢等方面。而重金属对氮吸收、运输和氮代谢的影响研究较为深入和集中。研究重金属与 N 元素间的交互作用,对于了解重金属对植物产生的危害及其机理和利用氮素 N 素调控减少重金属对人类健康的威胁,寻求防治或减轻重金属污染危害的新途径,对治理和修复重金属污染土壤具有重要的理论和实践意义。

## 1 重金属与 N 素在植物吸收过程中的交互作用

### 1.1 重金属对植物 N 素吸收的影响

重金属在土壤中的积累对土壤中 N 的矿化、脲酶的活性产生影响,从而影响植物对 N 的吸收。Cd 对土壤 N 的矿化的抑制作用最大,而合理的施加 N 肥,可以缓解重金属对脲酶的毒害作用<sup>[9]</sup>。镉在土壤中积累,可能导致细菌数量降低,硝化细菌的活性降低,抑制硝化作用<sup>[9]</sup>。

重金属对植物产生影响的第一个部位是原生质膜,间接干扰植物 N 的吸收。重金属对植物 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 吸收的损害可能与重金属改变了膜的渗透性有关。

土壤中过量的重金属会大大抑制植物对硝酸根离子的吸收。Buczek (1994) 研究了 Pb 在 25、50、100 μmol·L<sup>-1</sup> 处理的条件下,黄瓜对硝酸根离子的吸收

减少。同样 Gouia 等 (2000) 和 Hernandez 等 (1997) 使用 Cd 处理黄瓜和菜豆时也得到了相同的结果。植物对硝态氮的吸收也受到 Zn、Mn<sup>[10]</sup> 和 Cu<sup>[11-14]</sup> 的抑制。质膜中 H<sup>+</sup>-ATPase 活性及功能的改变是重金属导致的无机态 N 吸收受影响的原因。因为由 H<sup>+</sup>-ATPase 产生的跨膜电化学梯度是 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 穿过原生质膜运输的动力。

Cd 对高等植物吸收 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的抑制是很强。即使是在环境中这种离子的含量很低 (5 μmol·L<sup>-1</sup>) 的情况下,也会明显抑制许多植物对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收<sup>[15,16]</sup>。Cd 抑制植物对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收是通过外界营养介质中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的损失来实现的<sup>[10,17]</sup>。Cd 诱导的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 吸收的改变是与黄瓜<sup>[19]</sup> 和玉米<sup>[20]</sup> 组织中低浓度的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 同时发生的。而环境中的 Cd 浓度与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收并没有显著的关系<sup>[17,19]</sup>。5 μmol·L<sup>-1</sup> 的 Cd 和 25 μmol·L<sup>-1</sup> 的 Cd 对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 吸收的抑制作用几乎是相同的<sup>[18]</sup>。在蚕豆和豌豆幼苗中也发现了相似的现象。由于重金属在植物细胞中的强烈结合,从吸收溶液中去掉 Cd 并不能改变其对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 吸收的抑制效应,这种作用可持续达 96 h<sup>[10,17]</sup>。

Weber 等 (1991) 发现,与 Cd 的影响相似,Cu 和 Ni 对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收的影响也是不可逆的,在处理 8 h 后,即使在 Cu 的浓度低 (4 μmol·L<sup>-1</sup>) 的情况下,蝇子草 (*Siliene vulgaris*) 对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收也会受到不利影响。在短期处理的黄瓜试验中,钨酸盐也是一种有效的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 吸收抑制剂。它的影响也是不可逆的<sup>[20]</sup>。

而 Pb 对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 吸收的抑制效应是可逆的。去除营养介质中的 Pb, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收率就会立即恢复到控制的水平<sup>[21]</sup>。其原因可能在于细胞壁上含有羧基的部分形成了一个特殊的功能强大的屏障,充当阳离子交换体的作用。当细胞中 Pb<sup>2+</sup> 浓度降低的时候,细胞壁上积累的离子就会分离并且很容易从植物组织中释放出来。

用 Cu、Cd、Pb 处理黄瓜时, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 吸收受到抑制。Cu 在酸性条件下,活性更强,显著降低黄瓜中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的吸收<sup>[21]</sup>。Kubik-Dobosz 等 (2001) 发现 Cu、Cd、Mn、Ni、Zn 也会抑制大头菜对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的吸收<sup>[22]</sup>。在 Cu 存在的条件下,蝇子草 (*Siliene vulgaris*) 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的吸收会大大降低。Cu、Cd、Ni、Zn 和 Mn 抑制欧洲油菜

(*Brassica napus*) 幼苗对  $\text{NH}_4^+$  的吸收, 而 Cu 对  $\text{NH}_4^+$  吸收的影响程度最大<sup>[10,22]</sup>。Pb 和 Cd 对  $\text{NH}_4^+$  吸收改变的影响在酸性和中性条件下是相似的。

重金属胁迫可以导致无机态 N 吸收的降低, 但重金属对植物  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NH}_4^+$  吸收影响的机理目前仍然不清楚。重金属通过改变细胞间的 N 浓度产生信号转导路径, 从而导致参与吸收过程的基因编码酶表达的改变。重金属对  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  吸收影响的差异可能是由于这两种离子的吸收机制不同。阴性的  $\text{NO}_3^-$  只有在有能量的情况下才能通过质膜运输, 而  $\text{NH}_4^+$  则可以以主动或被动的形式通过细胞膜。

生理学研究表明, 重金属能够抑制  $\text{NO}_3^-$  的吸收, 重金属可能参与组成  $\text{NO}_3^-$  运输系统。Burzyn'ski 和 Buczek (1994) 的研究表明, 在外界低  $\text{NO}_3^-$  浓度的情况下 ( $0.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KNO}_3$ ), Cd、Pb、Cu 和 Ni 均能够抑制黄瓜幼苗中高亲和运输体对  $\text{NO}_3^-$  的吸收<sup>[21]</sup>。重金属同样还能降低高亲和  $\text{NH}_4^+$  运输体的活性<sup>[21]</sup>。许多重金属影响试验都是在外界  $\text{NO}_3^-$  或  $\text{NH}_4^+$  浓度很高 ( $>1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的情况下进行的, 因为只有这时不管是高亲和运输系统 (HATS) 还是低亲和运输系统 (LATS) 才会起作用<sup>[10,16,20]</sup>。因此, 重金属对低亲和  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NH}_4^+$  运输体的抑制作用并不能被排除。不管是高亲和系统还是低亲和系统, 重金属与  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NH}_4^+$  运输蛋白中的 -SH 会产生直接的交互作用。任何一种金属都容易与氨基酸中的 -SH 残基结合<sup>[22]</sup>。而 -SH 在原生质膜中  $\text{NO}_3^-$  运输体反应中心中具有重要的作用<sup>[23]</sup>。重金属抑制  $\text{NO}_3^-$  吸收的另一个解释是重金属抑制了原生质膜上质子泵的活性。根据 Serrano (1990) 的研究,  $\text{Cu}^{2+}$  是细胞原生质膜 ATPase 最有效的抑制剂之一<sup>[14]</sup>。酶的失活很可能是因为金属与 -SH 在 ATPase 活性中心的结合引起的。此外,  $\text{H}^+$ -ATPase 的活性也会受到膜上脂质组成的影响。

除了重金属对离子吸收的直接影响以外, Cu、Cd、Pb、Hg、Ni 和 Zn 可能与膜上的物质产生交互作用而对离子的吸收产生间接的影响。过量的重金属会改变膜上的脂质, 改变其总量、质量分数和饱和度<sup>[24]</sup>。金属诱导膜上脂质的破坏通常与过氧化有关<sup>[25]</sup>。膜上脂质的改变将会导致膜的功能和渗透性的丧失<sup>[26]</sup>。重金属 Cu、Cd、Zn、Hg 和 Al 能够导致 K 的流失<sup>[27,28]</sup>。重金属对植物  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NH}_4^+$  吸收的损害可能是由于重金属改变了膜的渗透性的结果。

## 1.2 N 素对植物吸收重金属的影响

土壤中的 N 素可以通过改变根际环境的 pH 而大大影响植物对重金属的吸收。研究表明, 氨态氮会

导致质子外渗和土壤酸化<sup>[28]</sup>, 而硝态氮会增加质子的吸收和土壤 pH<sup>[29]</sup>。Young 等 (2002) 发现仅  $\text{NH}_4^+$ -N 的硝化作用可使表土不同土层 pH 下降 0.2~1.4 单位<sup>[30]</sup>。而根际中的 pH 是影响重金属植物有效性的最重要的因素之一, 增加土壤 pH 可以降低植物对重金属的吸收<sup>[30,31]</sup>。楼玉兰等 (2005) 施用  $\text{NH}_4^+$ -N 处理的玉米根系和地上部 Cu、Zn 和 Pb 的含量均显著高于  $\text{NO}_3^-$ -N 处理, 其增幅均在 20% 左右<sup>[31]</sup>。因此, 施入硝态氮肥可以大大降低植物对重金属的吸收和累积, 而施入氨态氮肥则会增加植物组织中的重金属含量。

营养液中  $\text{NO}_3^-$  的吸收可以逐渐降低外界环境中的 Pb 浓度和植物受重金属影响的时间<sup>[18]</sup>。在森林生态系统中, 硝态性肥料能够有效抑制 Pb 的吸收和毒性。经 Pb 和 Zn 处理的冬小麦幼苗, 叶和根的生长受到抑制, 而氮肥的施用能减轻重金属离子的毒害作用, 并随施氮水平的提高, 毒性抑制作用越强<sup>[15]</sup>。一方面可能是 N 素的施用降低了重金属的有效性, 减少了植物对重金属的吸收, 降低植物体内的含量, 减轻重金属胁迫的毒害程度; 另一方面, 氮对植物生长的促进作用, 导致植物对重金属的稀释效应, 而减轻了重金属的毒害作用。

细胞膜上的蛋白质、糖类和脂质能够结合透过细胞壁的污染物。当环境中的铅浓度相当大时, 也有部分铅透过细胞壁, 在细胞膜上沉积下来。细胞质和液泡中具有许多能够与污染物结合的“结合座”, 当部分污染物突破细胞壁和细胞膜进入细胞质后, 就能够和细胞质中的蛋白质、氨基酸中的羧基、氨基、巯基、酚基等官能团结合, 形成稳定的螯合物<sup>[9]</sup>。因此, 细胞壁和细胞膜上存在的  $-\text{NH}_2$  与金属相结合而形成金属螯合物, 对重金属在质膜系统的固定和重金属元素的吸收产生了极大的抑制和阻碍作用。

植物细胞内与重金属有关的蛋白或多肽则可能导致重金属的不可逆吸收。超积累植物对重金属的大量吸收与小分子含氮化合物在植物体内的大量分泌有关。金属硫蛋白是生物有机体在某些金属的诱导下合成的一类脱辅基硫蛋白, 含有高达 30% 半胱氨酸, 对重金属具有很高的亲和力。大部分金属离子通过专一或通用的离子载体或通道蛋白进入根细胞, 该过程为一个依赖能量的、饱和的过程。非必需的重金属可与必需的金属元素竞争膜转运蛋白, 以离子形态或金属螯合物形态进入根细胞。氨基酸含有 -N 基、-SH 基等, 都能与金属结合形成复杂的金属螯合环。重金属与 -SH 结合能力的大小顺序为:  $\text{Hg} > \text{Ag} > \text{Cu}$

>Pb>Cd>Ni>Co>Zn>Mn<sup>[9,22]</sup>。

重金属元素与 N 素在根际环境和根细胞吸收过程中的交互作用,与重金属元素的种类、形态和 N 素的形态有关,也与植物的种类、生育期和代谢等有关。

## 2 重金属与 N 素在植物体内运输过程中的交互作用

### 2.1 重金属对植物 N 素运输的影响

根据 Filippis (1979) 的研究,  $Pb^{2+}$  和低浓度的  $Cd^{2+}$  能够长时间地与磷酸盐结合<sup>[22]</sup>。Cd 和 Pb 都会在原生质膜上形成非溶性的络合物,从而明显阻碍质外体和共质体两种方式的  $NO_3^-$  的运输。Hernandez 等 (1997) 和 Gouia 等 (2000) 的试验结果表明, Cd 能有效抑制  $NO_3^-$  从地下部分向地上部分的运输<sup>[10,32]</sup>。用 Pb 处理黄瓜幼苗,  $NO_3^-$  从地下部分向地上部分的分配受到抑制<sup>[21]</sup>。植物中  $NO_3^-$  的长距离运输通过木质部主要受到蒸腾强度的控制<sup>[33]</sup>。用  $Cd^{[33]}$  或  $Pb^{[18]}$  处理后植物蒸腾效率的降低可能是  $NO_3^-$  的长距离运输受到阻碍的原因。Cu 对  $NO_3^-$  从地下部分向地上部分的运输似乎没有影响。即使在环境中 Cu 浓度相对较高的情况下,植物吸收的  $NO_3^-$  也都能分配到地上部分<sup>[20]</sup>。其他重金属对  $NO_3^-$  长距离运输的影响研究较少。

重金属改变诱导性  $NO_3^-$  运输体和 HATS- $NH_4^+$  运输体的原因,除了重金属与-SH 的交互作用以外,还可能是由于降低了 NRT 和 AMT1 基因(运输蛋白的编码基因)的表达。烟草和拟蓝芥属植物的分子研究表明,降低植物组织中 NRT 基因表达的原因有两种:一是降低细胞间  $NO_3^-$  的含量,二是增加  $NH_4^+$  或氨基酸的含量<sup>[34,35]</sup>。用 Cd 处理的植物中也发现了重金属对组织中  $NO_3^-$ 、 $NH_4^+$  和氨基酸含量的影响<sup>[10,11]</sup>。提高细胞中氨基酸的含量也能抑制 AMT1 基因的表达<sup>[36]</sup>。

### 2.2 N 素对重金属在植物体内运输的影响

植物体内某些氨基酸的合成和积累,能在一定程度上促进重金属在植物体内的运输和分配。重金属进入根细胞质后,以游离金属离子形态存在,但细胞质中游离金属离子过多,对细胞产生毒害作用,干扰细胞的正常代谢,因而细胞质中金属可能与细胞质中的有机酸、氨基酸、多肽和无机物等结合,通过液泡膜上的运输体或通道蛋白转入液泡中。在超积累植物的液泡膜上,可能存在一些特殊的运输体,能把暂时贮存在液泡中的金属装载到木质部导管<sup>[37]</sup>。Ni 超积累植物主要是十字花科的庭芥属(*Alyssum*)植物, Ni 超积累

植物体内最高的 Ni 含量可达  $20\ 000\ mg \cdot kg^{-1}$  (DW), Ni 浓度超过  $20\ 000\ mg \cdot kg^{-1}$  (DW) 植物有 19 种。Kramer 等(2 000)研究了 Ni 的超积累植物十字花科庭芥属植物伤流液中组氨酸与 Ni 含量成正相关,认为可能由于组氨酸在植物体内与  $Ni^{2+}$  配位,能提高植物对  $Ni^{2+}$  的耐受性并促进在植物中的运输。X-射线吸收光谱分析发现,遏蓝菜属植物(*Thlaspi goesingense*)液泡和胞质中的 Ni 分别主要与柠檬酸和组氨酸结合,这可能是胞质中的 Ni 与组氨酸或组氨酸类似物结合形成复合物,然后跨液泡膜运输,转移到液泡中<sup>[38,39]</sup>。

根细胞共质体中自由 Cd 水平影响 Cd 在植物体内的运输,细胞质中游离态  $Cd^{2+}$  水平至少受两个过程的调控:与植物螯合肽结合和区室分布。根系中 Cd 与植物螯合肽结合对木质部 Cd 运输无影响, Cd 在根细胞中区室化是影响植物体 Cd 长途运输的一个有效机制。而在燕麦根细胞中, Cd 以自由金属离子通过  $Cd^{2+}$ - $H^+$  反向运输体和以 Cd-PC 复合物通过 Cd-PC 运输体两种机制跨液泡膜运输。

金属离子从根系转移到地上部分主要受两个过程的控制:从木质部薄壁细胞转载到导管和在导管中运输,后者主要受根压和蒸腾流的影响。木质部装载过程的能量来自木质部薄壁细胞膜上的  $H^+$ -ATPase 产生的负性跨膜电势<sup>[40]</sup>。阳离子在木质部的装载可能通过阳离子至质子反向运输体、阳离子至 ATPase 和离子通道<sup>[41]</sup>。在超积累植物中,可能存在更多的离子运输体或通道蛋白,从而促进重金属向本质部装载。重金属在超积累植物的木质部导管中的运输速率很高,如当生长介质中  $Zn^{2+}$  为  $50\ \mu mol$  时,超积累植物遏蓝菜属植物(*Thlaspi caeulescens*)伤流液中  $Zn^{2+}$  浓度比非超积累植物遏蓝菜(*Thlaspi arvense*)高 5 倍<sup>[37]</sup>。重金属在木质部的运输受叶片的蒸腾作用的驱动。用 ABA 处理诱导气孔关闭,印度芥菜地上部 Cd 积累量急剧减少,其伤流液中 Cd 浓度生长介质中 Cd 浓度变化呈双相饱和动力学特征,这可能存在一种专一的膜转运过程促进木质部金属离子的装载。此外,可能还有其他螯合物参与超积累植物体内重金属的长途运输。木质部细胞的阳离子交换量高,能够严重阻碍金属离子向上运输,所以,非离子态的金属螯合复合物在蒸腾流中的运输更有效。大豆、番茄中铜几乎全是以结合态存在。大豆中的铜与天冬氨酸结合的占 82%,与组氨酸结合的占 15%;番茄中铜与组氨酸结合的占 48%,与谷氨酸结合的占 25%,与天冬氨酸结合的占 23%<sup>[9]</sup>。

重金属的吸收和运输的机理在一定程度上与氨基酸运输和蛋白质基因的表达有关。重金属在植物中的运输,有 3 种类型的运输体:重金属 ATP 酶 (Cpx-type)、Nramp 和 CDF 蛋白家族。有关氨基酸或其他含 N 化合物等在木质部重金属的装载和运输中的作用,与不同的重金属结合的特定含 N 化合物的类型、结合方式、运输的动力学及在植物地上部分的分配及累积等方面,仍然需要进一步的深入研究。

### 3 重金属与 N 素在植物代谢过程中的交互作用

#### 3.1 重金属对植物 N 素代谢的影响

重金属与 N 素营养间的交互作用对植物的生理代谢过程产生很大的影响,特别是对 N 代谢的影响较为突出(图 1)<sup>[42,43]</sup>。

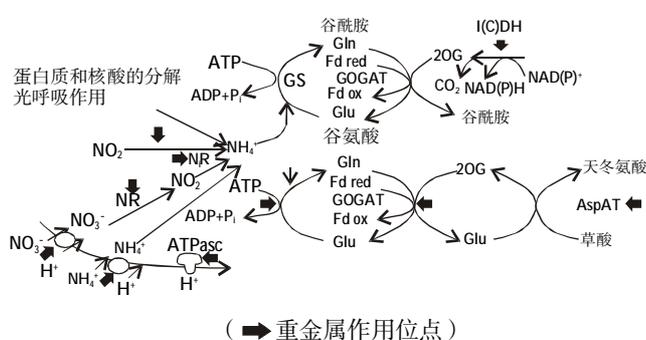


图 1 重金属能够对 N 素代谢的影响

Figure 1 Effects of heavy metals on nitrogen metabolism

N 被植物吸收以后就会作为一个重要的调控分子,改变 N 代谢基因表达,作为细胞 N 运输系统和 N 吸收酶基因编码的反馈调控子,特别是硝酸还原酶 (NR)、亚硝酸还原酶 (NiR)、谷氨酸合成酶 (GS)、和谷氨酸盐合成酶 (GOGAT)。通过硝酸还原酶 (NR) 和亚硝酸还原酶 (NiR) 的作用,植物体内吸收的  $\text{NO}_3^-$  能被还原为  $\text{NH}_4^+$ 。  $\text{NH}_4^+$  是惟一的可被植物吸收并进入氨基酸内的还原态 N。

氨基酸的生物合成重要的酶包括:谷氨酰胺合成酶 (GS)、谷氨酸盐合成酶 (GOGAT)、谷氨酸盐脱氢酶 (GOH)、天门冬氨酸氨基转化酶 (AspAT)、丙氨基转化酶 (AlaAT) 和天门冬氨酸酰胺合成酶 (AS)<sup>[44]</sup>。重金属对氨基酸代谢有关的酶活性产生影响。酶对重金属的敏感性是不一样的,重金属对不同位点上酶的影响与重金属的移动性、浓度以及重金属对植物的作用时间有关。在离体 (in vitro) 和在异位 (in vivo) 试验中所观察到的重金属对酶活性的改变并不总是相似的。在异位试验中重金属的影响通常是

很强烈的。在异位试验中重金属的影响通常取决于重金属对植物的作用时间,金属能够与参与基因表达和酶活性的必需因子反应,例如翻译因子、蛋白激酶或磷酸酶,并且改变对酶的活性至关重要的其他金属的含量<sup>[44]</sup>。

NR 是一个含有 Fe 和 Mo 具有独特蝶呤的黄素蛋白。Campbell (1999) 推测在 NR 全酶中含有两个重要的半胱氨酸残基<sup>[45]</sup>。一个是 Cys191,以 Mo 作为配位体,参与黄素蛋白结合的过程,另一个是 Cys889。半胱氨酸的 -SH 可以与 NADH 结合使电子能更好地传递给 FAD。对重金属来说,这两个半胱氨酸残基都是最敏感的作用位点。Cys191 在 NR 全酶与 Mo 结合的过程中发挥了重要的作用,对 Cd 来说它很可能是最敏感的作用位点。

用重金属处理,不同植物中 NR 活性均受到不同程度的抑制。Tippathi (1999) 研究了 Cr、Hg、Ni 处理下阔荚合欢的 NR 活性的抑制<sup>[46]</sup>。Cd 对大麦和菜豆 NR 的活性,Cr 对莲和白睡莲 NR 的活性的抑制作用都得到了证实<sup>[10,17,47]</sup>。

将小麦叶片悬浮在含 Cu 的溶液中,Cu 会导致 NR 的活性降低。当与 EDTA 结合后,Cu 的抑制作用就会改变。Cu 与 -SH 的亲性和比 Cd 和 Pb 强,在异位试验中,Cu 比 Cd 更能够显著地降低黄瓜根中 NR 的活性。用  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Cu 处理黄瓜幼苗 30 min,由于磷酸化水平的改变而降低了 NR 的活性<sup>[48]</sup>。Singh 等(1994)和 Bharti (1996)认为金属对 NR 的影响是非常间接的,很可能是通过抑制 NADH 和  $\text{NO}_3^-$  的供应而起作用<sup>[49,50]</sup>。在黄瓜幼苗中也发现了 Cd 和 Pb 对 NR 活性的间接影响<sup>[18]</sup>。

Cupta 和 Chandra (1996) 在黑藻 (Hydrilla verticillata) 中发现了 Hg 对  $\text{NO}_3^-$  含量和 NR 活性的不利影响,Pandey 和 Srivastava (1993) 发现了用 Hg 处理的玉米叶片中 NR 活性受到的抑制<sup>[51,52]</sup>。在浓度低于  $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的情况下能够显著降低叶片中异位 NR 的活性<sup>[53]</sup>。Hg 很容易与 -SH 结合,Hg 对 NR 活性的抑制作用可能是由于 Hg 与 NR 蛋白的交互作用以及降低了底物的有效性。在黄瓜幼苗的根和子叶中  $\text{WO}_4^{2-}$  也是一种  $\text{NO}_3^-$  吸收和 NR 活性的有效抑制剂<sup>[54]</sup>。Cr (VI) 能够显著抑制白睡莲 (Nymphae alba L.) 中 NR 的活性和蛋白质含量<sup>[46]</sup>。用 Cr 处理的白睡莲 (Nymphae alba L.) 中 NR 活性的降低可能是由于 Cr 干扰叶绿素生物合成,导致了光合作用降低而引起的。重金属与 NR 全酶中半胱氨酸残基的结合可能是

直接抑制 NR 活性的主要原因。并且,用金属对植物进行长期处理,会通过干扰植物的水分平衡、光合作用中糖的合成以及导致活性氧的产生而抑制 NR 的活性。

NiR 比 NR 的抗性更强, NiR 主要是一种结构性酶,酶蛋白很稳定,位于质体中,重金属对 NiR 的影响报道较少。将  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Cd 加入到培养液中能够降低从大豆叶中提取的 NiR 活性<sup>[10]</sup>。相似浓度的 Cd 却并不能改变豌豆根和叶以及黄瓜幼苗根中 NiR 活性<sup>[18,21]</sup>。可见,金属抑制 NiR 的能力与植物种类和重金属的活性是有关的。金属对 NiR 活性的异位抑制效应是很常见的,  $\text{NO}_3^-$  同样能够诱导 NiR 基因的表达,  $\text{NO}_3^-$  调控 NiR 基因的表达可能是金属异位抑制 NiR 的主要机理<sup>[55]</sup>。

金属对 GS 和 GOGAT 酶活性产生抑制效应的原因在于金属与酶蛋白上 -SH 结合。铵能够在 GS 和 GOGAT 催化下与非毒性的谷氨酰胺和谷氨酸结合<sup>[56]</sup>。Chien 和 Kao (2000) 的研究表明,  $\text{CdCl}_2$  能够诱导水稻叶片上铵的累积。Cd 能够降低 GS 和 GOGAT 的活性同时能够增加玉米中  $\text{NH}_4^+$  的含量<sup>[17]</sup>。重金属也会导致毒性氧的产生,从而通过直接的氧化反应或间接增加蛋白质水解酶的活性导致酶蛋白的崩溃<sup>[57]</sup>。

重金属能够影响豆科植物的  $\text{N}^2$  固定和固氮生物的共生作用。Mo、Cu、Fe、Zn 和 Co 在浓度相对很低的情况下对不同根瘤菌的生长是必须的。而环境中过量的重金属能够限制根瘤菌的侵染过程、根瘤的形成、功能及宿主植物的生长。Grill (1985) 认为由于污泥的污染或其他工业污染加入到土壤中的重金属,即使在浓度很低的情况下也能够减少白花三叶草中根瘤菌数量 ( $< 10^{10}$  细胞  $\cdot \text{g}^{-1}$  土)。另一方面,白花三叶草中有效的根瘤菌必须要在根瘤生长的情况下才能够生长。根瘤的形成能够有效地保护根瘤菌免受重金属的毒害,毒性最强的是 Cd,其次是 Zn 和 Cu<sup>[58]</sup>。重金属对豆科植物、根瘤菌的抑制作用包括以下过程:金属以非溶性盐的形式沉淀、螯合剂的产生、膜透性的改变、有机酸从根尖向根际中的释放、根际 pH 及其他性质的改变。

### 3.2 N 素代谢对重金属的防御

植物螯合剂、类 MT 蛋白和脯氨酸等的形成是非常重要的抗金属毒性的防御系统。

在重金属处理的植物细胞中由于产生富含半胱氨酸残基的植物螯合肽而形成防御机制。植物螯合肽或植物络合素(Phytochelatin, PC)是由 Glu(谷氨酸)、

Cys(半胱氨酸)、Gly(甘氨酸)3种氨基酸组成。植物螯合肽通过-SH 络合过量的重金属,形成重金属-PC 螯合物,避免重金属以自由离子的形式在细胞内循环,减少了重金属对细胞的伤害<sup>[58]</sup>。

重金属胁迫下 PC 的合成,是植物的一种“适应胁迫反应”。高浓度  $\text{Cd}^{2+}$  培养液中,耐 Cd 番茄品种可以大量积累 PC, Cd- 敏感品种则不能,如在培养液中加入 PC 合成酶抑制剂 (L- 丁酚胺硫酸亚砷 BSO (L-uthioine sulfoximine)), 耐 Cd 品种将丧失其对镉的耐性,而加入适量谷胱甘肽(GSH)可解除 BSO 的抑制作用<sup>[59]</sup>。Howden 等(1995)分离到 Cd- 敏感拟南芥突变体 Cod1-1 和 Cad2-1, 在 Cd 胁迫下, Cad1-1 和 Cod2-1 突变体体内 Cd 含量低,不能或仅少量形成 PC,对 Cd 敏感;耐 Cd 的野生型, Cd 含量极显著高于 Cad1-1 和 Cad2-1 及其杂交种,含有 PC 合成诱导酶,能大量合成 PC,形成  $\text{Cd}^{2+}$ -PC 螯合物,避免了 Cd 产生的毒害<sup>[60]</sup>。

PC 对必需的金属离子在植物体内的代谢起调节作用。PC 可以与  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等结合并输送至新合成需  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  脱辅基蛋白促进其酶活性,或形成核酸结构<sup>[42]</sup>;或植物螯合肽络合  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等金属离子,将过量的金属离子贮存于液泡中。

金属硫蛋白(Metallothionein, MT)是富含半胱氨酸(Cys)残基的低相对分子质量金属结合蛋白,Cys 残基可与重金属络合而解毒。有 50 种 MT (MT-Like)被发现。MT 的功能:金属的解毒(特别是 Cu 的解毒),细胞质内  $\text{Zn}^{2+}$  的缓冲;叶片衰老过程中金属的清除;金属通过叶片表皮毛的分泌等<sup>[61]</sup>。

脯氨酸是含 N 的化合物,能够在重金属抗性植物中累积<sup>[55,62]</sup>。金属诱导的脯氨酸累积是一个间接过程,主要还是与金属诱导的叶片中水分的缺乏有关。在 Sharma 等(1999)的试验中,脯氨酸可以保护离体葡萄糖-6-磷酸盐脱氢酶和 NR 免受 Zn 和 Cd 的毒害,形成金属-脯氨酸络合物<sup>[65]</sup>。在蚕豆的绿色组织中,As 和 Hg、Cu、Zn 等金属与其他非生物胁迫一样能够诱导富含脯氨酸的蛋白基因编码的表达<sup>[63]</sup>。富含脯氨酸的蛋白、富含甘氨酸的蛋白和富含羟基脯氨酸的糖蛋白是植物细胞壁上 3 种主要类型的结构蛋白。富含脯氨酸的蛋白在增强植物对重金属的抗性方面起着不可或缺的作用。脯氨酸等涉及植物对不同金属的耐性、金属通过木质部的运输、液泡对金属的隔离等<sup>[62]</sup>。

重金属对 N 代谢的影响主要包括对 NR、NiR、

GS、GOGAT 等酶活性的抑制、对根瘤菌、根瘤的形成等的影响<sup>[42,43]</sup>。而 N 素通过产生脯氨酸、植物螯合肽、金属蛋白等对重金属产生防御机制,同时相应的蛋白基因编码表达而对重金属产生抗性或耐性。

#### 4 小结

重金属能够对多个水平的 N 素代谢产生影响,重金属对植物原生质膜产生影响,改变膜的组成、流动性及 H<sup>+</sup> 泵,干扰植物 N 的吸收,改变 N 的运输,改变细胞间的 N 浓度能够产生信号,诱导参与吸收过程的基因编码酶表达的改变。重金属对特殊 N 吸收酶的抑制将会明显改变 N 的吸收。

氮具有缓冲重金属引起植物毒害的能力。编码 N 运输体和 N 吸收酶蛋白的特定基因的表达,将有助于从分子水平上了解 N 素通过产生防御物质而对重金属产生适应和抗性。理解在金属胁迫的植物中复杂的生化和生理响应,并在分子水平上研究提高植物对重金属抗性的策略,将成为重金属污染生态学研究的重点。

土壤植物系统中的重金属与植物营养元素间的交互作用是一个复杂系统,它们中的每一个过程都不是孤立的,而是彼此相互联系并相互作用的。因此,重金属元素对生物体的任何干扰或侵入都会在细胞、组织或器官水平上导致一系列复杂的反应,重金属与营养元素间的作用机理研究方面尚缺乏系统深入的研究。随着重金属污染的日益加剧,重金属与矿质营养元素之间交互作用关系的深入研究,将有助于人们寻求防治或减轻重金属污染危害的新途径,为治理和修复重金属污染土壤提供新的理论依据和技术支撑。

#### 参考文献:

- [1] 陈怀满.土壤-植物系统中的重金属污染[M].北京:科学出版社,1996.7-15.
- [2] Prasad M N V. Trace metals in Plant Ecophysiology. Ed. MNV Prasad[M]. John Wiley and Sons Inc, New York, 1997.207-249.
- [3] 陈怀满.土壤中化学物质的行为与环境质量[M].北京:科学出版社,2002.54-73.
- [4] 黄益宗.镉与磷、锌、铁、钙等元素的交互作用及其生态学效应[J].生态学杂志,2004,23(2):92-97.
- [5] 涂从.土壤镍各形态的生物可利用性研究[J].环境科学学报,1997,17(2):179-186.
- [6] 王新,周启星.外源镉铅铜锌在土壤中形态分布特性及改性剂的影响[J].农业环境科学学报,2003,22(5):541-545.
- [7] 祖艳群,林克惠.氮钾营养的交互作用及其对作物产量和品质的影响[J].土壤肥料,2000,2:3-7.
- [8] 胡克伟,颜丽,关连珠.土壤硅磷元素交互作用研究进展[J].土壤通报,2004,35(2):230-234.
- [9] 王焕校.污染生态学[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [10] 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 Physiol Biochem*, 2000, 38: 629-638.
- [11] Hernandez L E, Lozano-Rodriguez E, Ga'rate A, et al. Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribution of manganese in pea seedlings[J]. *Plant Sci*, 1998, 132: 139-151.
- [12] Tills A R, Alloway B J. The effect of ammonium and nitrate nitrogen source on copper uptake and amino acid status of cereals [J].*Plant Soil*, 1981, 62: 279-290.
- [13] Chesire M V, Bick W, De Kok P C, et al The effect of copper and nitrogen on amino acid composition of oat straw[J]. *Plant Soil*, 1982, 66, 139-148.
- [14] Weber M B, Schat H, Ten Bookum-Van Der Maarel W M. The effect of copper toxicity on the contents of nitrogen compounds in *Silvena vulgaris* (Moench) Garcke[J]. *Plant Soil*, 1991, 133: 101-109.
- [15] 安志装,王校常,施卫明,等.重金属与营养元素交互作用的植物生理效应[J].土壤与环境,2002,11(4):392-396.
- [16] Hernandez L E, Ga'rate A, Carpenta-Ruiz R. Effect of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum*[J]. *Plant Soil*, 1997, 189: 97-106.
- [17] Boussama N, Ouariti O, Suzuki A, et al. Cd-stress on nitrogen assimilation[J]. *J Plant Physiol*, 1999, 159: 310-317
- [18] Burzyn'ski M. The uptake and accumulation of phosphorus and nitrates and the activity of nitrate reductase in cucumber seedlings treated with PbCl<sub>2</sub> or CdCl<sub>2</sub>[J]. *Acta Soc Bot Polon*, 1988,3:349-359.
- [19] Lee S, Leustek T. The effect of cadmium on sulfate assimilation enzymes in *Brassica juncea*[J]. *Plant Sci*, 1999, 141: 201-207.
- [20] Weber M B, Schat H, Ten Bookum-Van Der Maarel W M. The effect of copper toxicity on the contents of nitrogen compounds in *Silvena vulgaris* (Moench) Garcke[J]. *Plant Sci*, 1991, 133: 101-109.
- [21] Burzyn'ski M, Buczek J. The influence of Cd, Pb, Cu and Ni on NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake by cucumber seedlings. I. Nitrate uptake and respiration of cucumber seedling roots treated with Cd, Pb, Cu and Ni[J]. *Acta Physiol Plant*, 1994, 16: 291-296.
- [22] De Filippis L F. The effect of heavy metal compounds on the permeability of *Chlorella* cells[J]. *Z Pflanzenphysiol*, 1979, 92: 39-49.
- [23] Klobus G, Jerzykiewicz J, Buczek J. Characterization of the nitrate transporter in root plasma membranes of *cucumis sativus* L.[J]. *Acta Physiol Plant*, 1998, 20: 323-328.
- [24] Devi S R, Prasad M N V. Membrane lipid alteration in heavy metal exposed plants, in M.N.V. Prasad and J.Hagemeyer(eds.), *Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystem*, Springer-Verlag, 1999.99-116.
- [25] Metharg A A. The role of plasmalemma in metal tolerance in angiosperms [J]. *Physiol Plant*, 1993, 88: 191-198.
- [26] Demidehik V, Sokolik A, Yurin V. The effect of Cu<sup>2+</sup> on iron transport system of the plant cell plasmalemma [J].*Plant Physiol*, 1997, 114:1313-1325.
- [27] Lindbrg S, Griffiths G. Aluminium effects on ATPase activity and lipid composition of plasma membrane in sugar beet roots[J].*J Exp Bot*, 1993,

- 44: 1543–1550.
- [28] Dyhr–Jansen, Brix H. Effect of pH on ammonium uptake by *Typha latifolia* L.[J]. *Plant Cell Environ*, 1996,19:1431–1436
- [29] Glass A D M. Nitrogen uptake by plant roots[J]. *ISI Atl Sci*, 1988,1:151–156.
- [30] Young S R, Black A S, Conyers M K. Distribution of nitrification within surface soils under pasture[J]. *Comm Soil Sci Plant Anal*, 2002; 33 (9–10): 1507–1518.
- [31] 楼玉兰, 章永松, 林成永. 氮肥形态对污泥农用土壤中重金属活性及玉米对其吸收的影响[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2005, 31(4): 392–398.
- [32] Hernandez L E, Ga'rate A, Carpenta–Ruiz R. Effect of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum*[J]. *Plant Soil*, 1997, 189: 97–106.
- [33] Barthes L, Deleens E, Bousser A, et al. Xylem exudation is related to nitrate assimilation pathway in detopped maize seedlings: use of nitrate reductase and glutamine synthetase inhibitors as tools[J]. *J Exp Bot*, 1996, 47: 485–495.
- [34] Quesada A, Hidalgo J, Fernandez E. Three nrt genes are differentially regulated in *Chlamydomonas*[J]. *Mol Gen*, 1997, 258: 373–377.
- [35] Kupper H, Kupper F, Spiller M. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants[J]. *Photosynthesis Research*, 1998, 58 (2): 123–133.
- [36] Rawat S R, Silim S N, Kronzucker H J, et al. AtAMT gene expression and  $\text{NH}_4^+$  uptake in roots of *Arabidopsis thaliana*: evidence for regulation by root glutamine levels[J]. *Plant J*, 1999, 19: 143–152.
- [37] Lasat M M, Baker A J M, Kochian L V. Physiological characterization of root  $\text{Zn}^{2+}$  absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and non-accumulator species of *Thlaspi*[J]. *Plant Physiol*, 1996, 112: 1715–1722.
- [38] Fabian G, Dezsi D M. Ecophysiological studies of the relationship between heavy metal toxicity and nitrogen nutrition in the early development stage of winter wheat[J]. *Acta Botanica Hungarica*, 1987, 33 (3–4): 219–234.
- [39] Kramer U, Pickering I J, Prince R C, et al. Subcellular localization and speciation nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species[J]. *Plant Physiol*, 2000, 122: 134–153.
- [40] 李元, 祖艳群, 王焕校. 镉、铁及其复合污染对烟草叶片氨基酸含量的影响[J]. *生态学报*, 1998, 18(6): 640–647.
- [41] Roberts S K, Tester M. Permeation of  $\text{Ca}^{2+}$  and monovalent cations through an outwardly rectifying channel in maize root stellar cells[J]. *J Exper Bot*, 1997, 48: 839–846.
- [42] Grazrna K, Marek B, Jozef B. Heavy metals and nitrogen metabolism, in H Bruno Schiefer, D V M, Donald G I, Shirley C. Buzik, B S P (eds.), *Understanding toxicology*, CRC Press, 1997: 325–355.
- [43] Krupa Z, Siedlecka A, Skorzynska P, et al. Heavy metal interactions with plant nutrients, in H Bruno Schiefer, D V M, Donald G I, Shirley C Buzik, B S P (eds.), *Understanding toxicology*, CRC Press, 1997: 287–301.
- [44] Van Asche F, Clijsters H. Effects of metals on enzyme activity in plants [J]. *Plant Cell Environ*, 1999, 13: 195–206.
- [45] Campbell W H. Nitrate reductase structure, function and regulation: Bridging the gap between biochemistry and physiology[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 277–303.
- [46] Tippiathi A K, Tripathi S. Changes in same physiological and biochemical characters in *Albizia lebbek* as bioindicators of heavy metal toxicity [J]. *J Environ Biol*, 1999, 20: 93–98.
- [47] Vajpayee P, tripathi R D, Rai U N, et al. Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein contents in *Nymphaea alba* L[J]. *Chemosphere*, 2000, 41: 1075–1082.
- [48] Luna C M, Casano L M, Trippi V S. Nitrate reductase is inhibited in leaves of *Triticum aestivum* treated with high level of copper[J]. *Physiol Plant*, 1997, 101: 103–108.
- [49] Singh R P, Bharti N, Kumar G. Differential toxicity of heavy metals to growth and nitrate reductase activity of *Sesamum indicum* seedlings [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35: 1153–1156.
- [50] Bharti N, Singh R P, Sinha S K. Effect of calcium chloride on heavy metal induced alteration in growth and nitrate assimilation of *Sesamum indicum* seedlings[J]. *Phytochemistry*, 1996, 41: 105–109.
- [51] Gupta M Chandra P. Bioaccumulation and physiological changes in *Hydrilla verticillata* rpyle in response to mercury[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1996, 56 :319–326.
- [52] Pandey M, Srivastava H S. Inhibition of nitrate reductase activity and nitrate accumulation by mercury in maize leaf segment[J]. *J Environ Health*, 1993, 35: 110–114.
- [53] Gupta M, Chandra P. Bioaccumulation and toxicity of mercury in rooted–submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*[J]. *Environ Pollut*, 1998, 103 :327–332.
- [54] Klobus G, Lubocka J, Buczek J. Effect of sodium tungstate on  $\text{NO}_3^-$  uptake by cucumber seedlings[J]. *Acta Phys Plant*, 1991, 13 :227–233.
- [55] 郭秀璞, 孔祥生, 张妙霞. 锌对小麦镉毒害的缓解效应[J]. *河南农业大学学报*, 1999, 33(2): 211–214.
- [56] Chien H F, Kao C H. Accumulation of ammonium in rice leaves in response to excess cadmium[J]. *Plant Sci*, 2000, 156: 111–115.
- [57] Dietz K J, Baier M, kramer U. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metals toxicity in plants. In: M N V Prasad and J. Hagemeyer (eds.), *heavy metal Stress in plant. From Molecules to Ecosystems*[J]. *Springer-Verlag*, 1999: 73–98.
- [58] Grill E et al. Phytochelatin: the principal heavy metal complexing peptides of higher plants [J]. *Science*, 1985, 230: 674–676.
- [59] Steffens J C., 1990, The heavy metal binding peptides of plants, *Annu. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol.*, 553–575.
- [60] Howden R, et al. Gardenia–sensitive, clad mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient[J]. *Plant Physiology*, 1995, 107: 1059–1066.
- [61] Rauser W E. Phytocheltins and related peptides[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109: 1141–1149.
- [62] Sharma S S, Schat H A, Vooijs R. In vitro alleviation of heavy metals–induced enzyme inhibition by proline[J]. *Phytochemistry*, 1999, 49: 1531–1535.
- [63] Chai T Y, Didierjean L, Burkard G, et al. Expression of green tissue–specific 11 kDa proline–rich protein gene in bean in response to heavy metals[J]. *Plant Sci*, 1998, 133: 47–56.