

铀尾沙对油菜幼苗生长和生理特征的影响

严明理, 冯 涛*, 向言词, 刘丽莉, 王海华, 肖 璐

(湖南科技大学生命科学学院, 湖南湘潭 411201)

摘要: 采用沙培盆栽试验, 以铀尾沙所占比例分别为 0% (CK)、25% (T1)、50% (T2)、75% (T3)、100% (T4) 的培养基质, 研究了铀尾沙对芥菜型油菜、甘蓝型油菜和白菜型油菜出苗率、幼苗生物量、叶绿素含量、丙二醛 (MDA) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性和还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量的影响。结果表明: 不同比例的铀尾沙对油菜出苗率的影响差异不显著 ($P > 0.05$)。3 种油菜的生物量均随铀尾沙处理量的增加而呈先增后降的现象, 甘蓝型油菜和白菜型油菜在 T2 时生物量最大, 芥菜型油菜在 T3 时生物量最大。MDA 含量则呈先降低后升高, 甘蓝型油菜和白菜型油菜在 T2 时 MDA 含量最低, 芥菜型油菜在 T3 时的 MDA 含量最低, 并与叶绿素含量呈显著的负相关。随铀尾沙处理量的增加, 3 种类型的油菜 SOD、CAT、POD、APX 和 GR 活性逐渐增加, GSH 含量也持续升高。铀尾沙对油菜幼苗生长和抗氧化酶系统产生了一定的诱导作用, 而这 3 种油菜也对铀尾沙表现出较强的耐受能力。

关键词: 铀尾沙; 油菜幼苗; 生长; 生理特征

文章编号: 1000-0933 (2009) 08-4215-08 中图分类号: Q948 文献标识码: A

Effects of uranium tailings on growth and physiological characteristics of *Brassica* seedlings

YAN Ming-Li, FENG Tao*, XIANG Yan-Ci, LIU Li-Li, WANG Hai-Hua, XIAO Lu

College of Life Science, Hu'nan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, Hunan, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4215 ~ 4222.

Abstract: As a by-product of the uranium enrichment process, uranium tailings (UT) has lower radioactivity than purified natural uranium and similar chemical toxicity to enriched or chemically purified natural uranium. When inhaled or ingested in sufficient doses, UT causes a distinct health hazard. However, few studies were reported on the hazard extent of plants under the treatment of UT. *B. juncea*, *B. napus* and *B. rapa* seedlings were cultivated in the mixture of uranium tailings and river sands at the proportions of 0 (CK), 25% (T1), 50% (T2), 75% (T3), 100% (T4), respectively. The emergence rate and the biomass of seedlings, the contents of chlorophyll, malonyldialdehyde (MDA) and reductive glutathione (GSH), the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxide enzyme (POD), ascorbate peroxidase (APX), and glutathione reductase (GR) were determined in *B. juncea*, *B. napus* and *B. rapa* seedlings. The results indicated that the emergence rate of seedlings was promoted by UT, but there was no significant difference among the treatments of UT. The biomass of seedlings was the highest under T2 for *B. napus* and *B. rapa*, while the biomass of seedlings was the highest under T3 in *B. juncea*. The MDA content was the lowest under T2 in *B. napus* and *B. rapa*, while that was the lowest under T3 in *B. juncea*. There was significantly negative correlation between MDA and Chlorophyll content. The activities of SOD, CAT, POD, APX, GR and the content of GSH were increased with increase of applied UT in the three *Brassica* species. The study showed that low proportion UT could promote the growth and the antioxidase system of *Brassica* plants. The three *Brassica* species have strong tolerance to UT and can grow in UT as the pioneer plants.

基金项目: 国家“863”资助项目 (2005AA219040)

收稿日期: 2008-05-07; 修订日期: 2008-12-10

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ymljack@126.com

Key Words: Uranium tailings; Rapeseed seedlings; Growth; Physiological characteristics

铀是一种能释放 α 、 β 射线的有害重金属元素,能破坏生物组织和器官,导致基因突变和细胞癌变^[1-3]。铀尾沙是经过水冶处理提取铀后排出的废渣,是含有残余的铀和其他放射性核素的复合污染物^[2]。铀矿开采、核实验、战争等原因引起的大面积含铀土壤、水以及悬浮的铀矿尘埃等污染对自然生态环境和人类健康造成不同程度的危害。国家制定的工业污水允许总 α 放射性最高排放限值为 1 Bq (相当于 $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 天然铀)^[4],而铀矿冶、铀加工的残留物(废沙、废水)中仍存在一定含量的放射性核素和重金属元素。已有研究表明,铀尾沙对水稻^[3,5] SOD、POD 等抗氧化酶活性以及铀对菜豆^[6] DNA 的完整性产生了一定的影响,芸薹属植物对铀有耐受和富集作用^[7]。十字花科芸薹属植物中的芥菜型油菜耐旱、抗寒,在铀尾矿周围有生长。有报道表明,芥菜型油菜中的印度芥菜生物量大,可同时积累 Pb、Cd、Ni、Zn 和 Cu 且对重金属有一定的耐受能力^[8-10],可用于重金属污染矿区的植物修复。然而,铀尾沙对植物的幼苗生长和多种生物酶活性变化以及相互之间的协调作用的报道甚少,尤其是能在尾矿周围生长的植物。铀(尾沙)胁迫可能会增强或削弱植物的某些代谢过程,如增强消除自由基的酶系统活性、抑制植物叶片叶绿素合成以及减少植株生物量等。为此,本试验研究了不同比例的铀尾沙培养基质对芥菜型、甘蓝型和白菜型 3 种油菜幼苗生长状况以及抗氧化反应的影响,为阐明植物遭受铀尾沙胁迫的毒害机理和铀尾矿污染区域的生物修复提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

芥菜型油菜(*Brassica juncea*) 湖南芥菜,种子采自湖南铀尾矿库区;甘蓝型油菜(*Brassica napus*) 湘油 15、白菜型油菜(*Brassica rapa*) 长沙桂花籽均来自国家油料改良湖南分中心。铀尾沙取自中国核工业集团湖南铀尾矿库,1 kg 铀尾沙中含 106.7 mg 铀,8390 Bq 镭,2.0% 铁,3.47% 钙,0.16% 镁,0.02% 铜,0.0005% 镉(该成分含量由铀尾矿库安环处提供)。

1.2 试验方法

将普通细沙冲洗数遍自然风干后过 3 mm 筛,以铀尾沙重量比 0(CK)、25%(T1)、50%(T2)、75%(T3) 和 100%(T4) 与普通细沙混合均匀,装于 20 cm $\times$ 15 cm $\times$ 8 cm 的塑料盆内,每盆沙重量为 2.4 kg,每个处理重复 3 次。将供试的油菜种子(精选籽粒饱满)经 2% 双氧水消毒 10 min 后,用蒸馏水冲洗干净,分别播种于各处理的沙盆内,每盆放有 30 颗油菜种子,在温室中进行催芽和苗期培养,光强度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,昼夜温度 $(22 \pm 2)^\circ\text{C} / (16 \pm 2)^\circ\text{C}$,湿度 $(60 \pm 5)\%$,发芽期每天加蒸馏水 1 次(水量不超过盆内的沙面),幼苗生长期每隔 2 d 浇蒸馏水 1 次,每次 150 ml。待发芽后第 7 天统计油菜出苗率(以长出 2 片子叶为准),并在每个盆中留长势一致的苗 4 株,接着培养 30 d 取幼苗单株洗净根部细沙,用滤纸吸去根外部水分,称量幼苗单株的鲜重,并选用第 2~3 完全叶(从上至下)进行生理指标测定。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 丙二醛(MDA)含量测定

采用硫代巴比妥酸法^[11]。

1.3.2 叶绿素含量测定

采用丙酮提取法^[12]。

1.3.3 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性测定

SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)还原法^[13],在 A_{560} 下以抑制 NBT 光化还原 50% 的酶量为一个酶活力单位。CAT 活性采用紫外吸收法^[13],测定每 1 min A_{240} 值的变化情况。POD 活性采用愈创木酚显色法^[14],测定每 30 s 所增加的 A_{470} 值。

1.3.4 抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性测定

参照 Chen and Asada 的方法提取酶液^[15],在反应液(pH 7.0 的 50 mmol L^{-1} 磷酸缓冲液,含 0.6 mmol L^{-1}

的抗坏血酸)中加入体积分数 10% H_2O_2 ,立即测定 290 nm 下 3 min 内光吸收的下降。

1.3.5 谷胱甘肽还原酶(GR)的活性测定

参照 Vivek 等方法^[13,16]稍加改进。取 1 g 新鲜叶片,液氮研磨成粉末,按 1/5 (W/V)比例加入 100 mmol L^{-1} 预冷磷酸缓冲液(pH 7.5,含 1 mmol L^{-1} EDTA 和 1 mmol L^{-1} DTT),在 4 °C 下 $12\,000 \times g$ 离心 15 min,上清为 GR 粗酶液。GR 活性测定:反应液为 100 mmol L^{-1} 磷酸缓冲液(pH 7.5,含 0.5 mmol L^{-1} EDTA,0.75 mmol L^{-1} DTNB,0.1 mmol L^{-1} NADPH 和 1 mmol L^{-1} GSSG),加入酶液后测定 335 nm 下吸光值。

1.3.6 还原型谷胱甘肽(GSH)含量测定

参照 Devi 和 Prasad 的方法^[17]。取 1 g 新鲜叶片,液氮研磨成粉末,迅速加入 4 ml 的提取液(其中 1 ml 25% H_3PO_3 ,3 ml 100 mmol L^{-1} 磷酸盐-EDTA 缓冲液,pH 8.0),在 4 °C 下 $10\,000 \times g$ 离心 20 min,上清为 GSH 的粗提液。取 100 μl 上清液加入 1.8 ml 磷酸盐-EDTA 缓冲液和 100 μl 邻苯二甲醛(OPTA)溶液(1 mg ml^{-1}),混合后室温放置 15 min,于 420 nm 下测定吸光值。

酶液中的蛋白质浓度采用考马斯亮蓝法测定^[18],以牛血清白蛋白(BSA)为标准。

1.4 数据处理

应用 SAS6.12 统计软件进行实验数据处理和分析。不同比例铀尾沙对芥菜型、甘蓝型和白菜型油菜出苗率、生物量以及一些生理指标的影响采用方差分析(ANOVA)完成,并检验各处理间的差异显著性。在叶绿素含量与 MDA 含量之间作相关性分析(Correlation Analysis)。

2 结果与分析

2.1 铀尾沙对油菜出苗率和幼苗生物量的影响

铀尾沙处理下 3 种油菜的出苗率与对照相比均升高,但各处理间差异不显著($P > 0.05$)(表 1)。铀尾沙对油菜出苗率没有表现出抑制作用。种子发芽过程中除了需要适量的温度、水分等条件外,还与培养基质存在着一定的关系,也可能是铀尾沙中的辐射和微量元素刺激了种子内淀粉酶活力的上升^[3],从而有利于种子冲破种皮、露出新芽。

植物生物量积累受抑可能是细胞膜遭受破坏、一些矿质元素的吸收和运输受阻等有关^[19]。铀尾沙中含有重金属元素(U、Ra、Cd 等)和某些微量的营养元素(Fe、Ca、Mg 等),重金属元素在油菜体内积聚过多,可严重阻碍水分和矿物质元素的正常运转,从而造成植株生长缓慢和生物量降低。随着培养基质中铀尾沙含量的增加,3 种油菜生物量均呈现先升后降的趋势(表 1)。芥菜型油菜在 75% 的铀尾沙处理(T3)下的生物量最高,比 CK、T1、T2 分别增加了 27.4%、23.0% 和 11.6%,而 T4 比 T3 减少了 18.4% ($P < 0.05$)。甘蓝型和白菜型油菜的生物量均在 50% 的铀尾沙处理(T2)下达到最大值,分别比对照增加了 12.6% 和 15.6% ($P < 0.05$),而这两种油菜生物量在 T3 和 T4 中却依次减少。100% 的铀尾沙处理(T4)下,芥菜型和甘蓝型油菜生物量与对照相比差异不显著($P > 0.05$),而白菜型油菜却显著低于对照($P < 0.05$)。通过不同比例铀尾沙处理对 3 种油菜生物量的影响,可以推测芥菜型和甘蓝型油菜对高比例的铀尾沙处理具有较强的耐受能力。

表 1 铀尾沙对油菜出苗率和生物量的影响

Table 1 Effects of uranium tailing stress on emergence rate and biomass in rapeseed seedlings

项目 Item		铀尾沙处理 Treatment of uranium tailing				
		CK	T1	T2	T3	T4
出苗率	芥菜型油菜 <i>B. juncea</i>	90.00 $\pm$ 3.33a	91.11 $\pm$ 1.92a	93.33 $\pm$ 3.34a	95.56 $\pm$ 5.09a	93.33 $\pm$ 3.34a
Emergence rate (%)	甘蓝型油菜 <i>B. napus</i>	88.89 $\pm$ 5.09a	91.11 $\pm$ 3.85a	92.22 $\pm$ 5.09a	91.11 $\pm$ 1.92a	90.00 $\pm$ 3.33a
	白菜型油菜 <i>B. rapa</i>	90.00 $\pm$ 3.33a	92.22 $\pm$ 1.92a	93.33 $\pm$ 3.34a	93.33 $\pm$ 6.67a	92.22 $\pm$ 1.92a
生物量 Biomass	芥菜型油菜 <i>B. juncea</i>	1.97 $\pm$ 0.07c	2.04 $\pm$ 0.18bc	2.25 $\pm$ 0.08b	2.51 $\pm$ 0.06a	2.12 $\pm$ 0.10bc
(g·plant ⁻¹ FW)	甘蓝型油菜 <i>B. napus</i>	2.15 $\pm$ 0.08bc	2.30 $\pm$ 0.03ab	2.42 $\pm$ 0.07a	2.26 $\pm$ 0.13ab	2.03 $\pm$ 0.10c
	白菜型油菜 <i>B. rapa</i>	1.67 $\pm$ 0.09b	1.79 $\pm$ 0.07ab	1.93 $\pm$ 0.07a	1.88 $\pm$ 0.06a	1.53 $\pm$ 0.09c

在同行中具有不同字母为差异显著($P < 0.05$) Table in the same lane with different letter stand for differ significantly ($P < 0.05$)

2.2 铀尾沙对油菜幼苗叶片 MDA 和叶绿素含量的影响

MDA 积累量的高低反映了细胞膜脂过氧化作用的强弱^[20]。随着铀尾沙处理量的增加,3 种油菜叶片的 MDA 含量均出现先降低后上升的趋势(图 1),芥菜型油菜在 T3 时的 MDA 含量值最低,并显著低于 CK($P < 0.05$),但在 T4 时的 MDA 含量与 CK 相比差异不显著($P > 0.05$)。甘蓝型和白菜型油菜在 T2 时的 MDA 含量值最低,均显著低于 CK($P < 0.05$),而这两种油菜在 T4 处理下的 MDA 含量却显著高于 CK($P < 0.05$)。MDA 含量在一定程度上体现了植物的伤害程度,也反映植物的抗胁迫能力,即在同一时期抗逆性强的植物 MDA 含量低、变幅小;反之,抗逆性弱的植物 MDA 含量高、变幅大^[21]。铀尾沙处理下的芥菜型油菜叶片 MDA 含量的变化幅度明显小于甘蓝型和白菜型油菜,这可能是芥菜型油菜对铀尾沙胁迫下的膜脂过氧化具有较强的抵御能力。

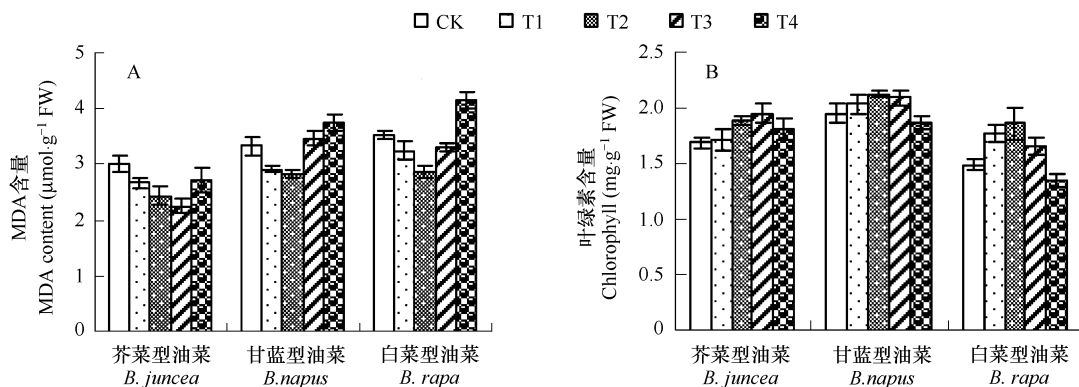


图 1 铀尾沙对油菜幼苗叶片 MDA 含量和叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effects of uranium tailing stress on MDA content and Chlorophyll content in rapeseed leaves

铀尾沙处理下,3 种油菜叶绿素含量在各处理组中也存在明显差异(图 1)。芥菜型油菜叶绿素含量在 T3 时达到了峰值,并显著高于 CK($P < 0.05$),而在 T4 时却有所下降,但与 CK 相比差异不显著($P > 0.05$),由此可见,芥菜型油菜叶绿素的稳定性说明了该油菜对抵抗铀尾沙胁迫的能力较强。甘蓝型和白菜型油菜叶绿素含量均在 T2 时达到峰值,而在 T4 时却明显下降,其中白菜型油菜下降显著($P < 0.05$)。相比之下,白菜型油菜叶绿素增幅最大,随铀尾沙处理量的增加,其降幅也最大,说明白菜型油菜叶绿素对铀尾沙胁迫最为敏感。铀尾沙处理下的芥菜型、甘蓝型和白菜型油菜叶片叶绿素含量分别与各 MDA 含量之间呈现显著负相关($r_{B. juncea} = -0.90555, P = 0.0343$; $r_{B. napus} = -0.94704, P = 0.0145$; $r_{B. rapa} = -0.95601, P = 0.0110$) ($0.01 < P < 0.05$)。植物在逆境胁迫下,细胞活性氧代谢的平衡遭受破坏而产生大量自由基,它们可能穿过质体膜进入叶绿体,加速了叶绿体质膜过氧化而损伤细胞膜结构^[22],使得叶绿素含量减少,并导致 MDA 含量增加。根据相关性分析表明,油菜在铀尾沙处理下的叶绿素含量可反映出叶片 MDA 含量的变化情况,另一方面也暗示了植株受铀尾沙胁迫程度的强弱。

2.3 铀尾沙对油菜幼苗叶片 SOD、CAT、APX、POD 和 GR 活性的影响

SOD 是清除过氧化物的关键酶,其功能是将 $O_2^{\cdot -}$ 歧化为 H_2O_2 ,随后由 CAT 和 APX 等分解多余的 H_2O_2 ^[22]。随着培养基中铀尾沙含量的增多,3 种油菜 SOD 活性均呈现上升趋势(图 2),其中芥菜型和甘蓝型油菜增加幅度最为明显。芥菜型和甘蓝型油菜在 T4 处理下的 SOD 活性显著高于 CK、T1、T2 和 T3 ($P < 0.05$),而白菜型油菜在 T3、T4 处理下的 SOD 活性均显著高于 CK、T1、T2 ($P < 0.05$)。上述结果表明,高比例铀尾沙处理对 3 种油菜 SOD 活性均产生了明显的诱导效应,加强了组织内部的抗氧化能力。

3 种油菜在铀尾沙处理下的 CAT 活性均显著高于 CK($P < 0.05$)(图 2)。随着铀尾沙处理量的增加,芥菜型和甘蓝型油菜的 CAT 活性也依次增加且上升幅度较为明显,在 T3、T4 处理下的 CAT 活性均显著高于 T1、T2($P < 0.05$),而白菜型油菜 CAT 活性变幅相对较小,且在 T1、T2、T3 和 T4 4 个处理间的 CAT 活性差异

不显著($P > 0.05$)。

POD 是植物防御机能中一种重要的保护性酶,铀尾沙处理能影响油菜 POD 的活性(图 2)。3 种油菜在 T1 处理下的 POD 活性与 CK 相比差异不显著($P > 0.05$);3 种油菜在 T2、T3 和 T4 处理下的 POD 活性均显著高于 CK 和 T1($P < 0.05$),芥菜型油菜的 POD 活性分别比其 CK 高 18.44%、44.86% 和 57.09%,甘蓝型油菜的 POD 活性分别比其 CK 高 22.67%、42.44% 和 45.74%,白菜型油菜的 POD 活性分别比其 CK 高 32.25%、33.97 和 41.41%。芥菜型油菜 POD 活性的上升幅度明显高于甘蓝型和白菜型油菜,可能芥菜型油菜在抵御高比例铀尾沙的胁迫和清除活性氧的能力要比甘蓝型和白菜型油菜强。

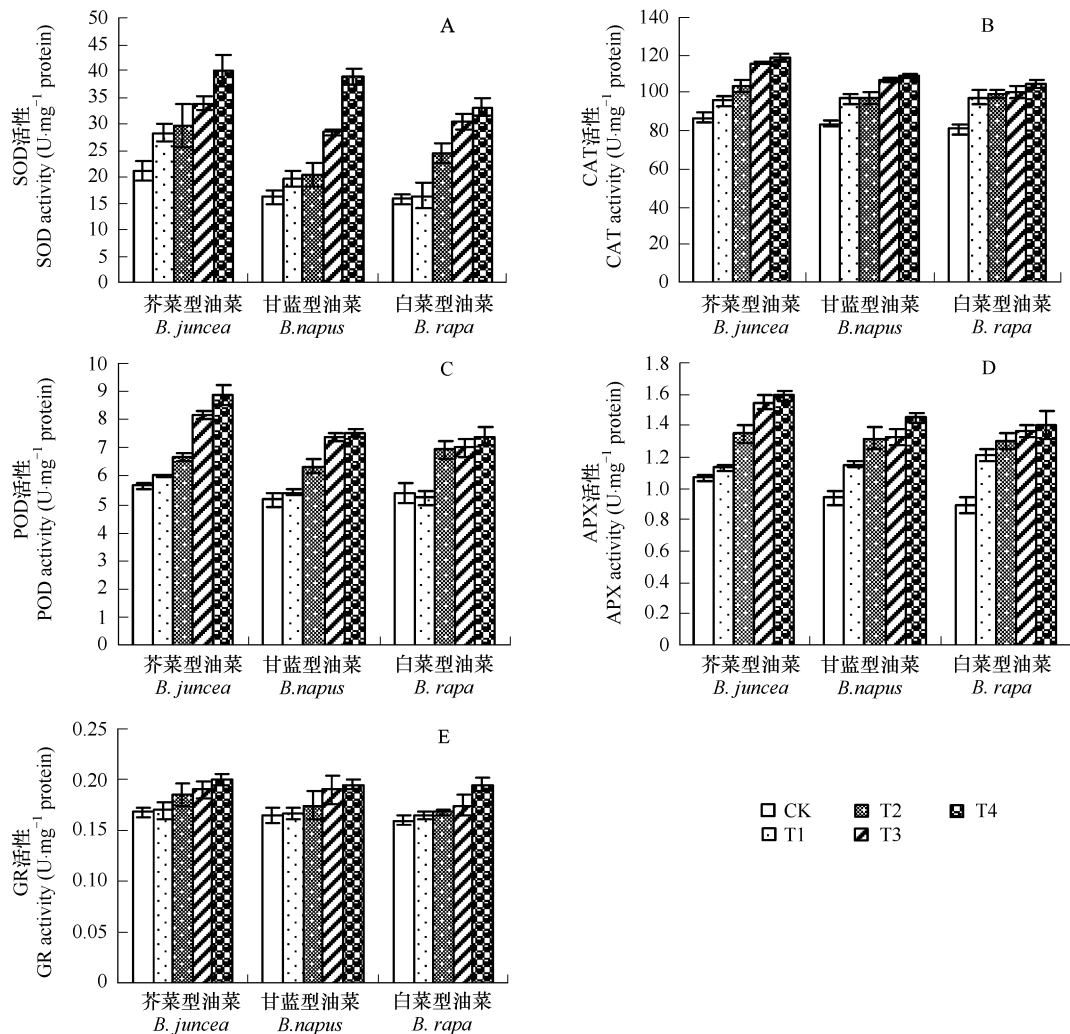


图 2 铀尾沙对油菜 SOD、CAT、POD、APX 和 GR 活性的影响

Fig. 2 Effect of uranium tailing stress on activities of SOD, CAT, POD, APX and GR in rapeseed leaves

APX 存在于叶绿体、线粒体、过氧化物酶体和细胞质中,主要通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环来清除细胞内的活性氧自由基,从而避免活性氧的伤害^[16]。图 2 所知,芥菜型油菜在 T1 处理下的 APX 活性与其 CK 相比差异不显著($P > 0.05$),但 T2、T3 和 T4 处理下的 APX 活性分别与 CK 相比要高出 26.17%、44.86% 和 48.60%,并存在显著差异($P < 0.05$),而甘蓝型和白菜型油菜在 T1、T2、T3 和 T4 处理下的 APX 活性均显著高于 CK($P < 0.05$)。

GR 是植物细胞内将氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原为 GSH 的关键酶,也是清除植物细胞内部 H₂O₂ 的酶催化系统的重要组成部分之一^[23]。铀尾沙胁迫下,3 种油菜 GR 活性均呈上升趋势(图 2)。芥菜型油菜在 T1 和 T2 处理下的 GR 活性与 CK 相比差异不显著($P > 0.05$),但 T3 和 T4 处理下的 GR 活性显著高于 CK($P < 0.05$);

甘蓝型油菜在 T4 处理下 GR 活性显著高于 CK,但与 T1、T2 和 T3 差异不显著($P > 0.05$);白菜型油菜在 T4 处理下的 GR 活性却显著高于 CK、T1、T2 和 T3 ($P < 0.05$)。

2.4 铀尾沙对油菜幼苗叶片 GSH 含量的影响

GSH 可作为螯合肽存在植物体内能与膜质过氧化物以及 DNA 氧化降解产物等有害代谢物结合,从而抵抗因胁迫造成的伤害^[24]。随着铀尾沙处理比例的增加,3 种油菜的 GSH 含量均呈上升趋势(图 3)。芥菜型油菜在 T4 处理下的 GSH 含量显著高于 CK、T1 和 T2 和 T3($P < 0.05$);甘蓝型油菜在 T4 处理下的 GSH 含量显著高于 CK 和 T1($P < 0.05$),但与 T2 和 T3 差异不显著($P > 0.05$);白菜型油菜在 T4 处理下的 GSH 含量显著高于 CK,但与 T1、T2 和 T3 差异不显著($P > 0.05$)。实验表明,T4 处理(100% 的铀尾沙)对 3 种油菜 GSH 含量均有较强的诱导作用,GSH 含量的增加使其与重金属离子以及过氧化产物的螯合能力也相应增强,以缓解油菜所受的胁迫。

3 讨论

辐射和重金属毒害严重抑制植物发芽、叶绿素合成,影响活性氧的代谢,降低作物产量和质量,加速其衰老及死亡^[25,26]。笔者在铀尾矿库调查发现废弃的铀尾沙堆弃地干旱,植物生长较少,但尾矿周边灌溉的农田仍广泛种植农作物。本次试验发现铀尾沙对 3 种油菜的出苗率影响均较小,可能是油菜种子发芽和幼苗出苗暴露在铀尾沙中的时间较短,受胁迫程度不明显。在铀尾矿库废弃地自然生长植物较少的原因一方面可能是缺少水分而植物种子不能发芽所致,另一方面则可能是长期的铀尾沙辐射抑制了植物正常生长。

植株生物量不仅与植物种类、生态型有关,而且与所在生长基质的性质有关,而不同植物对铀尾沙胁迫的反应也存在不同。铀尾沙处理对 3 种油菜幼苗生物量分别表现出各自的最大限度,T2 处理明显刺激了甘蓝型和白菜型油菜幼苗生物量增加,T3 处理亦能促进芥菜型油菜的生物量增加。在 T4 处理下,3 种油菜幼苗生物量均小于 T2、T3 处理,其中芥菜型和甘蓝型油菜生物量与对照相比差异不显著,而白菜型油菜却显著低于对照。这可能是芥菜型和甘蓝型油菜在抵抗高比例铀尾沙胁迫时自身的防御机制产生了较强的保护作用,有效阻止植物体内活性氧和自由基的积累。而油菜幼苗生长出现受阻的重要原因可能是培养基质中辐射元素和其他重金属的存在,诱导了氧化胁迫和膜脂过氧化作用的加强,从而造成植株生长受抑制。

叶绿素是作物光合作用的物质基础,其含量高低决定作物光合作用水平,叶绿素破坏与降解可导致光合作用效率的降低。试验中发现,芥菜型、甘蓝型和白菜型油菜分别在 75%、50% 和 50% 的铀尾沙处理时叶片 MDA 含量最低而叶绿素含量却最高,可见适当比例的铀尾沙处理亦能促进油菜叶绿素合成并抑制 MDA 的积累。然而在 100% 的铀尾沙处理下,3 种油菜幼苗叶绿素含量均降低且叶片 MDA 含量明显升高,可见因高比例铀尾沙胁迫引起的氧化作用加强而积累了较多的 MDA,MDA 本身又是一种高活性的脂过氧化物它能交联脂类、核酸、糖类及蛋白质从而进一步对质膜的结构和功能造成不良影响,使其电解质持泄漏量增加影响了细胞质膜,包括叶绿体片层膜的物质组分导致膜结构改变,影响膜的流动性及其与酶的结合力,继而影响位于片层上的叶绿素含量^[27]。本试验 3 种油菜叶绿素含量与 MDA 含量呈显著负相关也进一步证实了这一过程。

植物在遭受逆境胁迫时,其生理代谢受阻并产生大量活性氧如 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等^[28],而活性氧浓度的提高势必造成细胞膜脂过氧化作用的加强,使活性氧产生与清除之间的动态平衡遭受破坏,导致膜系统损伤和细胞伤害。在此过程中植物主动或被动地调动抗氧化酶类(SOD、POD、CAT 和 APX)和抗氧化物质(GSH 等)来清除这些活性氧和氧自由基,减缓和抵御细胞伤害^[16,29]。活性氧或逆境可以激活植物体本身存在的 SOD 酶或

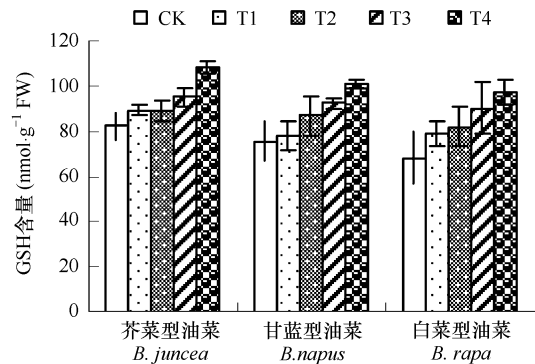


图 3 铀尾沙对油菜叶片 GSH 含量的影响

Fig. 3 Effect of uranium tailing stress on GSH content in rapeseed leaves

者通过诱导酶蛋白编码基因的表达而合成新的 SOD^[30]。随着铀尾沙处理比例的升高,3 种油菜 SOD 酶活性均呈上升趋势,可能是铀尾沙刺激了植物体本身存在的 SOD 酶活性上升或者诱导合成新的 SOD 酶,而 CAT、APX 和 POD 为清除过多 H₂O₂ 则与 SOD 协同起保护作用,以延缓活性氧自由基的积累或抵御胁迫所造成的伤害。有研究表明,重金属对植物幼苗生长和抗氧化酶的影响一般认为存在一个较低浓度下刺激效应和高浓度下的抑制效应^[19]。在本研究中,T1、T2 处理对 3 种油菜幼苗某些抗氧化酶(SOD、CAT 和 APX 等)活性的上升幅度变化不大,可能是油菜对低比例铀尾沙处理具有较强的自我适应和生理调节能力,随铀尾沙处理比例的加大,在 T4 处理下,3 种油菜幼苗抗氧化酶活性没有表现抑制作用,反而刺激了油菜抗氧化酶活性的明显升高,说明了在植物体内所具有的活性氧清除酶系统和具抗性特征的生理活动被诱导而增强,有效清除了体内的超氧阴离子自由基,这也与铀尾沙对水稻和小麦处理的结果类似^[3]。表明了铀尾沙处理对油菜抗氧化酶活性存在明显的诱导作用和剂量效应,这也可能是植物在一定程度上为减缓铀尾沙造成的伤害所作出的反应。

随着铀尾沙处理量的增加,3 种油菜幼苗的 GR 活性也逐渐升高,且有利于 GSH 含量持续上升。GSH 是高等植物组织中的一种低分子量巯基复合物,能为植物生长储备大量的非蛋白还原性巯基^[31],同时也是植物体内重要的抗氧化物质及信号分子^[23]。结合本次实验结果,铀尾沙处理可能通过上调 GR 活性、增加 GSH 含量来调节油菜幼苗对铀尾沙胁迫下的耐受性,以减缓铀尾沙造成的氧化损伤。而在铀尾矿污染区种植油菜对其产量和品质的影响如何及由此可能引发的食品安全风险也需进一步研究。

References:

- [1] Purvis O W, Bailey E H, McLean J, *et al.* Uranium Biosorption by the Lichen *Trapelia involuta* at a Uranium Mine. *Geomicrobio J*, 2004, 21:159—167.
- [2] Wang H J. Environmental pollution and treatment concerning uranium geological exploration engineering. *Radiation Protection Bulletin*, 2000, 20(2):27—29.
- [3] Wang R L, Wang Q, Yi S, *et al.* Effects of uranium tailings stress on chlorophyll contents and protective enzymes in rice and wheat seedlings. *Acta Agron Sin*, 2005, 31(8):1064—1068.
- [4] Integrated wastewater discharge standard of People's Republic of China national standards (GB 8978-1996). Beijing: State Bureau of Environment Protection and State Bureau of Technical Supervision, 1995.
- [5] Yi S, Wang R L, Wang Q, *et al.* Effects of uranium tail Stress on chlorophyll content and MDA content and activity of SOD in rice seedlings. *Acta Agron Sin*, 2004, 30(6):626—628.
- [6] Vandenhove H, Cuypers A, Van H M, *et al.* Oxidative stress reactions induced in beans (*Phaseolus vulgaris*) following exposure to uranium. *Plant Physiol Biochem*, 2006, 44:795—805.
- [7] Huang J W, Blaylock M J, Kapulnik Y, *et al.* Phytoremediation of uranium-contaminated soil: role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. *Environ Sci Tech*, 1998, 32:2004—2008.
- [8] Nanda-Kumar P B A, Dushenkov V, Motto H, *et al.* Phytoextraction: The use of plants to heavy metals from soils. *Environ Sci Technol*, 1995, 29:1232—1238.
- [9] Haag-Kerwer A, Schafer H J, Heiss S, *et al.* Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *J Exp Bot*, 1999, 50:1827—1835.
- [10] Jiang X J, Luo Y M, Zhao Q G. Study on Phytoextraction of heavy metal polluted soils III. Cadmium and Zinc uptake and accumulation by Indian Mustard. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(5):663—669.
- [11] Zhao S J, Xu C C, Zou Q, *et al.* Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues. *Plant Physiol Commun*, 1994, 30(3):207—210.
- [12] Zhang Z L. Measurement of Chlorophyll a and Chlorophyll b in plant organization. In: Zhang Z L and Qu W J eds. *Experimental Technology of Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 2004, 67—70.
- [13] Pandey V, Dixi V and Shyam R. Antioxidative responses in relation to growth of mustard (*Brassica juncea* cv. *Pusa Jaikisan*) plants exposed to hexavalent chromium. *Chemosphere*, 2005, 61:40—47.
- [14] Lin A J, Zhang X H, Chen M M, *et al.* Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *J Environ Sci*, 2007, 19:596—602.
- [15] Chen G X, Asada K. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties.

- Plant Cell Physiol, 1989, 30: 987—998.
- [16] Dixit V, Pandey V, Shyam R. Differential antioxidative responses cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. *Azad*). J Exp Bot, 2001, 52: 1101—1109.
- [17] Devi S R, Prasad. M N V. Antioxidant capacity of *Brassica juncea* plants exposed to elevated levels of copper. Russ J Plant Physiol, 2005, 52(2): 205—208.
- [18] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye-binding. Analyt Biochem, 1976, 44: 276—287.
- [19] Mishra S, Srivastava S, Tripathia R D, et al. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiol Biochem, 2006, 44: 25—37.
- [20] Chien H F, Wang J W, Lin C C, Kao C H. Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation. Plant Growth Regul, 2001, 33: 205—213.
- [21] Wang H Z, Ma J, Li X Y, et al. Effects of water stress on some physiological characteristics in rice during grain filling stage. Acta Agron Sin, 2006, 32(12): 892—1897.
- [22] Sandalio L M, Dalurzo H C, Gomez M, et al. Cadmium- induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. J Exp Bot, 2001, 52: 2115—2126.
- [23] Israr M, Sahi S V and Jain J. Cadmium accumulation and antioxidative responses in the sesbania drummondii callus. Arch Environ Contam Toxicol, 2006, 50: 121—127.
- [24] Gajewska E, Sklodowska M, Slaba M, et al. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. Biologia Plantarum, 2006, 50(4): 653—659.
- [25] Chen H, Jin Y, Zhang X H, et al. The effect of $^{60}\text{Co}-\gamma$ Radiation on seedling growth, root protein and oxidase activities in *Oryza Sativa*. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 1999, 32(2): 116—120.
- [26] Jiang H D, Zhou Q, Li N, et al. Effect of Cd on the growth and physiological characteristics of rape seedlings. China J Oil Crop Sci, 2006, 28(1): 39—43.
- [27] Xu Z Z, Yu Z W, Dong Q Y, et al. Effects of Water on Cell Membrane and the Ultrastructure of Flag Leaf Cell in Winter Wheat. Acta Agron Sin, 1997, 23(3): 370—375.
- [28] Sreenivasulu N, Grimm B, Wobus U, Weschke W. Differential response of antioxidants to Salinity stress in salttolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). Physiol Plant, 2000, 109: 435—442.
- [29] He Z Q, He C X, Zhang Z B, et al. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, 59: 128—133.
- [30] Bowler C, Montagu V M and Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Bio, 1992, 43: 83—116.
- [31] Tang C F, Liu Y G, Zeng G M, et al. Effects of Cadmium Stress on Active Oxygen Generation, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in Radish Seedlings. J Plant Physiol Mol Bio, 2004, 30(4): 469—474.

参考文献:

- [2] 王红军. 铀矿地质勘探工程的环境污染及其治理. 辐射防护通讯, 2000, 20(2): 27~29.
- [3] 王瑞兰, 汪琼, 易俗, 等. 铀尾沙胁迫对水稻和小麦幼苗叶绿素含量及抗氧化酶的影响. 作物学报, 2005, 31(8): 1064~1068.
- [4] 中华人民共和国国家标准污水综合排放标准 GB8978-1996. 北京: 国家环境保护局、国家技术监督局, 1995.
- [5] 易俗, 王瑞兰, 汪琼, 等. 铀尾沙胁迫对水稻幼苗叶绿素含量、MDA 含量和 SOD 活性的影响. 作物学报, 2004, 30(6): 626~628.
- [10] 蒋先军, 骆永明, 赵其国. 重金属污染土壤的植物修复研究 III. 金属富集植物 *Brassica juncea* 对锌镉的吸收和积累. 土壤学报, 2002, 39(5): 663~669.
- [11] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207~210.
- [12] 张志良. 叶绿素 a、b 含量测定. 见: 张志良, 翟伟菁主编. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2004. 67~70.
- [21] 王贺正, 马均, 李旭毅, 等. 水分胁迫对水稻结实期一些生理性状的影响. 作物学报, 2006, 32(12): 892~1897.
- [25] 陈宏, 靳阳, 张喜红, 等. 不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对水稻幼苗生长、根系蛋白及一些氧化酶活性的影响. 南开大学学报(自然科学), 1999, 32(2): 116~120.
- [26] 江海东, 周琴, 李娜, 等. Cd 对油菜幼苗生长发育及生理特性的影响. 中国油料作物学报, 2006, 28(1): 39~43.
- [27] 徐振柱, 于振文, 董庆裕, 等. 水分胁迫对冬小麦旗叶细胞质膜及叶肉细胞超微结构的影响. 作物学报, 1997, 23(3): 370~375.
- [31] 汤春芳, 刘云国, 曾光明, 等. 镉胁迫对萝卜幼苗活性氧产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响. 植物生理和分子生物学学报, 2004, 30(4): 469~474.