

铬胁迫对芥菜型油菜生理特性和铬富集的影响

王爱云¹, 钟国锋², 徐刚标¹, 刘志祥¹, 申响保¹

(1. 中南林业科技大学生命科学与技术学院,长沙 410004; 2. 昆山市中宇景观工程有限公司,昆山 512300)

摘要:采用盆栽试验研究了重金属铬胁迫对芥菜型油菜来凤芥菜和四川黄籽的出苗率、幼苗生物量、叶绿素含量、丙二醛含量(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性、铬的亚细胞分布和铬富集的影响。目的是阐明植物遭受铬胁迫的毒害机制和铬污染土壤的植物修复提供理论依据。结果表明,低浓度铬能够促进芥菜型油菜生长,提高出苗率,增加幼苗生物量和叶绿素含量,但MDA含量降低;高浓度铬导致芥菜型油菜出苗率、幼苗生物量和叶绿素含量下降,MDA含量增加,并且MDA含量与叶绿素含量呈显著负相关。当土壤中外源铬浓度<300 mg/kg时,铬处理导致2种油菜叶片中SOD和POD活性都增加,但是当铬浓度>300 mg/kg时,铬抑制叶片中SOD和POD活性。来凤芥菜和四川黄籽叶片富集的铬主要分布于细胞质中(分别为48.57%~64.77%和41.03%~76.42%),其次为细胞壁,而叶绿体和线粒体中含量很低(<10%)。相对而言,四川黄籽能够耐受较高浓度的铬胁迫。2种油菜根和地上部分铬含量随铬处理水平的提高而增加。在加入300 mg/kg铬的土壤中,芥菜型油菜生长70 d后,来凤芥菜和四川黄籽叶片累积铬的平均浓度分别达167.30和197.60 mg/kg,平均每株地上部富集铬总量均达最大值,分别为1.71和2.81 mg/plant,平均每株从土壤中带走的铬分别占土壤中全铬含量的0.23%和0.38%。在铬污染土壤植物修复中,四川黄籽具有潜在的应用价值。

关键词:铬;胁迫;芥菜型油菜;生理特性;铬富集

中图分类号:X171.5 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2011)06-4717-09

Effects of Cr(VI) Stress on Physiological Characteristics of *Brassica juncea* and Its Cr Uptake

WANG Ai-yun¹, ZHONG Guo-feng², XU Gang-biao¹, LIU Zhi-xiang¹, SHEN Xiang-bao¹

(1. College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 2. Kunshan Zhongyu Landscape Engineering Co. Ltd., Kunshan 512300, China)

Abstract: In order to identify the toxic mechanism of plant under chromium (Cr) stress, provide theoretic foundation for phytoremediation of Cr-contaminated soil, pot experiment was conducted to investigate the effects of heavy metal Chromium [Cr(VI)] stress on the emergence rate, the biomass of seedlings, the contents of chlorophyll, malonyldialdehyde (MDA), the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxide enzyme (POD), Cr subcellular distribution in the leaves and Cr uptake in *Brassica juncea*. The results indicated that the emergence rate of seedlings, the biomass and the chlorophyll content of *B. juncea* were increased under lower Cr(VI) concentrations. However, lower emergence rate, biomass and chlorophyll content were observed for the higher Cr(VI) concentrations. The content of malonyldialdehyde (MDA) was reverse with increased Cr(VI) concentration, and there was significantly negative correlation between MDA and Chlorophyll content. The activities of SOD and POD were increased under 300 mg/kg Cr(VI), but the activities of SOD and POD were decreased above 300 mg/kg Cr(VI). Cr was mainly distributed in the cytoplasm of leaves (48.57%~64.77%, 41.03%~76.42%, respectively) and the second in the cell wall, and less distributed in the mitochondrion and chloroplast (<10%) in Laifengjiecai and Sichuanhuangzi. Sichuanhuangzi could accumulate more Cr in leaves than Laifengjiecai from the Cr-contaminated soil. As compared to Laifengjiecai, Sichuanhuangzi has stronger tolerance to Cr(VI) pollution. The Cr contents in stem, leaf and root of *B. juncea* usually were heightened with increased concentrations of Cr(VI) in soil. Average Cr concentration in the leaves of Laifengjiecai and Sichuanhuangzi were 167.30 and 197.60 mg/kg, respectively for 70 days growing in the soil spiked with 300 mg/kg Cr(VI), the maximum of Cr content in plant shoots were 1.71 and 2.81 mg/plant, respectively, namely, Cr removed by plant shoots were 0.23% and 0.38% of Cr content in treated soil, respectively. The results suggest that Sichuanhuangzi is promising for the phytoremediation of Cr-contaminated soil.

Key words: Cr(VI); stress; *Brassica juncea*; physiological characteristics; Cr uptake

铬广泛应用于化工、轻工、冶金、纺织、机械等行业。我国是世界铬盐生产大国,据不完全统计,我国年产铬已超过16万t,每年新排放铬渣约60万t,历年累积堆存铬渣近600万t,受铬严重污染的土壤达1250多万t。铬不仅污染土壤,影响植物生长发育,

收稿日期:2010-06-21;修订日期:2010-08-23

基金项目:湖南省科技厅项目(2008SK4027);中南林业科技大学引进人才科研启动基金项目(104-0128);中南林业科技大学林木遗传育种学科建设项目

作者简介:王爱云(1964~),女,博士,副教授,主要研究方向为植物遗传育种, E-mail: wangaiyun12@yahoo.com.cn

而且还可通过食物链影响人类健康^[1]. 因此, 研究铬污染土壤修复新技术具有重要意义. 利用超积累植物对重金属的富集特性而进行植物修复, 因运作成本低、操作简便、生态友好、且可大规模实施等优点而日益成为目前治理重金属污染土壤的一种有效方法. 重金属污染区域的植物修复主要是利用超积累植物吸收污染土壤中的重金属, 从而达到净化土壤的目的. 但自然界中存在的超积累植物种类稀少, 分布受地域局限, 并且生物学产量低, 因此, 从植物资源中筛选生物学产量高、富集重金属能力较强的植物将成为植物修复技术的一条新思路.

植物在遭受铬胁迫时会发生一系列生理生化变化. 低浓度铬处理对高丹草幼苗根系质膜 ATPase 活性影响较小, 较高浓度铬处理使其 ATPase 活性及根生长受到抑制^[2]. 长期铬胁迫将导致叶片中重金属积累, 增加植物叶绿素酶的活性, 促进叶绿素分解, 叶片变黄, 光合作用下降^[3-7]. 因此, 叶绿素的破坏程度可以作为植物在重金属铬胁迫下组织受损程度的判定标准之一. 此外, 铬胁迫也会导致细胞内活性氧累积, 产生氧化胁迫^[6, 8, 9]. 活性氧在植物体内积累, 若不能及时清除, 则可抑制 CO₂ 的固定, 并参与叶绿体的降解, 引发膜脂过氧化^[10]. SOD、POD 能调节细胞内的活性氧水平, 减弱细胞内因活性氧大量积累而造成的伤害^[11]. 活性氧清除酶系统活性较高的植物对铬胁迫的耐受性也较强^[11-13].

近年来, 各国环境科学工作者在耐铬植物筛选方面做了大量研究. 相继发现了李氏禾^[14]、*Dicoma niccolifera* Wild 和 *Sutera fodina* Wild^[15] 3 种铬超积累植物, 紫狼尾草、芦竹具有修复铬污染土壤潜力的植物^[16, 17]. 李氏禾适合于修复铬污染人工湿地, 而其余几种植物作为铬污染土壤的植物修复材料, 缺乏实际操作可行性. 十字花科芸薹属植物芥菜型油菜耐旱、抗寒、生物量较大, 可大量富集 Pb、Cd、Ni、Zn 和 Cu 等多种重金属^[18-21], 可作为这些重金属污染矿区土壤修复的植物材料. 然而关于芥菜型油菜对重金属铬富集特性和铬污染土壤修复的研究相对缺乏. 本研究以来凤芥菜和四川黄籽为试验材料, 采用盆栽试验, 在不同外源铬含量水平的土壤上, 分析了 2 种油菜的生长状况、富集铬效应, 以期阐明植物遭受铬胁迫的毒害机制和铬污染土壤的植物修复提供理论依据.

1 材料与方 法

1.1 试验材料

芥菜型油菜 (*Brassica juncea*) 来凤芥菜和四川黄籽, 均来自湖南农业大学. 供试土壤采自中南林业科技大学花卉苗圃, 土壤中铬含量为 0.62 mg/kg.

1.2 试验方法

将供试土壤自然风干, 磨细后过 4 mm 筛, 每盆装入 2.5 kg 干土, 统一加入适量花卉复合肥, 并按不同处理加入 K₂Cr₂O₇ 水溶液, 使土壤成黏稠状, 充分混匀. 各处理土壤中外源铬的含量分别为 0、100、200、300、400、500 mg/kg. 各处理土壤作为模拟不同浓度的铬污染土壤, 室内平衡一周后用于试验, 试验重复 3 次. 将供试的油菜种子 (精选籽粒饱满) 用 2% 的 NaClO (质量分数) 溶液消毒 12 min 后, 用蒸馏水冲洗干净, 分别播种于各处理土壤的花盆内, 每盆播 30 粒种子, 在光照培养箱中培养, 光强度 200 μmol/(m²·s), 昼夜温度 (23 ± 2) °C / (18 ± 2) °C, 湿度 (65 ± 2) %. 待发芽后第 7 d 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幼苗 3 株, 生长 40 d 后, 选用植株第 2~3 完全叶 (从上至下), 每处理采集 3 株共 3 片叶混匀, 测定各项生理生化指标和铬的亚细胞分布. 生长 70 d 后进行终期采样, 用蒸馏水洗净整个植株, 用滤纸吸去根外部水分, 称量单株鲜重, 然后将地上部和地下部分开, 在 105 °C 下杀青 0.5 h, 70 °C 烘干至恒质量, 用电子天平称取各部分质量. 烘干样品粉碎过 0.425 mm 筛, 用于测定重金属铬含量. 同时计算单株地上部、根富集铬量以及单株地上部富集铬率. 单株地上部对铬的净化率 = 单株地上部富集铬的量 / 土壤全铬量 × 100%, 其中土壤全铬量 = 花盆中土壤重量 × 铬浓度.

1.3 测定项目及方法

1.3.1 植物生理指标

采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛 (MDA) 含量^[22]; 丙酮提取法测定叶绿素含量^[23]; 氮蓝四唑 (NBT) 还原法测定超氧化物歧化酶 (SOD) 活性^[24]; 愈创木酚显色法测定过氧化物酶 (POD) 活性^[25].

1.3.2 铬的亚细胞分布

参照汤惠华等^[26]方法提取各细胞器和细胞质组分. 取嫩叶 2 g, 按 1:10 的比例, 加入预冷的匀浆液 [250 mmol/L 蔗糖, 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4), 1 mmol/L 二硫赤藓糖醇 (C₄H₁₀O₂S₂)] 在 4 °C 下研磨匀浆. 匀浆液依次在 600 r/min 离心 10 min, 1 000 r/min 离心 15 min, 10 000 r/min 离心 20 min, 依次得沉淀为细胞壁、叶绿体、线粒体组分, 最后上清液为细胞质组分 (含液泡及核糖和蛋白等). 各组分供铬含量测定.

1.3.3 植物样品中重金属铬含量的测定

称取粉碎的植物样品 2.0 g 置于锥形瓶中,加入 20 mL 浓硝酸和 4 mL 高氯酸后低温加热消解。在体积减至 2~5 mL 时,加入 10 mL 去离子水,再加热 10~15 min,最后移入 25 mL 比色管中,并用 0.2% 的硝酸稀释至刻度,使用原子吸收分析仪(日立 18070)分析其中铬含量^[27]。

1.4 数据处理

应用 SPSS 11.5 统计软件进行试验数据处理和分析。分析不同外源铬含量土壤对芥菜型油菜出苗率、生物量、富集铬量以及一些生理指标的影响,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。

2 结果与分析

2.1 铬胁迫对芥菜型油菜出苗率和幼苗生物量的影响

铬胁迫对芥菜型油菜出苗率和幼苗生物量都有一定的影响(表 1)。随着土壤中铬含量的提高,来凤芥菜和四川黄籽的出苗率均呈现先上升后下降的趋势,即低浓度铬对来凤芥菜和四川黄籽的出苗有一定的促进作用。当铬浓度为 200 mg/kg 时,来凤芥菜和四川黄籽的出苗率均最高,分别为 88.89%

和 91.11%。但对于来凤芥菜而言,当铬浓度达到 300 mg/kg 时,其出苗率明显比对照低,除 100 mg/kg 处理外,各处理出苗率与对照差异显著($p < 0.05$);而四川黄籽不同,当铬浓度达 300 mg/kg 以上时,其出苗率仍然高于对照,但 0、100、200、300 mg/kg 这 4 个处理间出苗率差异不显著($p > 0.05$),可见,铬对四川黄籽出苗抑制作用较弱。

重金属在植物体内积聚过多,可严重阻碍水分和矿质元素的正常运转,从而造成植株生长缓慢和生物量降低。低浓度铬处理条件下,2 种油菜生物量呈增加趋势;高浓度铬则表现抑制作用,导致生物量降低。来凤芥菜在 100 mg/kg 铬处理下的生物量最高,达 29.10 g/plant,比对照增加了 6.8%,而在 200、300、400、500 mg/kg 这 4 个处理中生物量依次减少($p < 0.05$),500 mg/kg 处理比对照减少了 62.8%,植株明显矮化。对于四川黄籽,在 300 mg/kg 处理下,生物量最大,达 28.46 g/plant,比对照增加了 19.8%,与 200 mg/kg 处理差异不显著($p > 0.05$),但与其余处理差异显著($p < 0.05$)。即使当土壤中铬含量达在 400 mg/kg 时,其生物量仍然较对照多 1.53 g/plant。通过铬胁迫对 2 种油菜出苗率和幼苗生物量影响的研究,可以推测四川黄籽对铬胁迫具有较强的耐受力。

表 1 Cr(VI) 胁迫对芥菜型油菜出苗率和生物量的影响¹⁾

Table 1 Effects of Cr(VI) stress on emergence rate and biomass of *B. juncea* seedlings

项目	Cr(VI) 浓度 / mg·kg ⁻¹						
	0	100	200	300	400	500	
出苗率 / %	来凤芥菜	81.11 ± 1.11 ^b	85.56 ± 1.11 ^{ab}	88.89 ± 1.11 ^a	70.22 ± 4.87 ^c	55.56 ± 1.11 ^d	35.56 ± 1.11 ^e
	四川黄籽	85.56 ± 1.11 ^a	90.00 ± 1.92 ^a	91.11 ± 4.00 ^a	88.89 ± 2.22 ^a	75.56 ± 2.94 ^b	62.22 ± 2.94 ^c
生物量 (FW) / g·plant ⁻¹	来凤芥菜	27.24 ± 0.38 ^b	29.10 ± 0.38 ^a	25.33 ± 0.23 ^c	23.10 ± 0.11 ^d	19.14 ± 0.09 ^e	10.12 ± 0.13 ^f
	四川黄籽	23.75 ± 0.05 ^d	26.45 ± 0.04 ^b	28.32 ± 0.07 ^a	28.46 ± 0.09 ^a	25.28 ± 0.06 ^c	17.58 ± 0.05 ^e

1) 同行具有不同字母上标者为差异显著 ($p < 0.05$)

2.2 铬胁迫对芥菜型油菜叶绿素含量的影响

土壤中外源铬对芥菜型油菜叶绿素含量的影响与其生物量的变化趋势基本相似。低浓度铬处理下,2 种油菜的叶绿素含量增加,高浓度铬则表现抑制作用,叶绿素含量明显降低(表 2),这也许是高浓度铬抑制芥菜型油菜叶片中叶绿素的合成,从而抑制植物的生长,导致生物量降低。当来凤芥菜生长在 100~300 mg/kg 铬处理土壤中,其叶绿素含量均比对照高,且各处理间差异显著($p < 0.05$),但以 100 mg/kg 铬处理的叶绿素含量最高,比对照增加 22.4%。而四川黄籽却以 300 mg/kg 铬处理的叶绿素含量最高,达 2.39 mg/g,比对照增加 21.7%,二者差异显著($p < 0.05$)。说明在一定的浓度范围内,

表 2 Cr(VI) 胁迫对芥菜型油菜叶绿素含量的影响¹⁾

Table 2 Effects of Cr(VI) stress on chlorophyll content in leaves of *B. juncea*

Cr(VI) 浓度 / mg·kg ⁻¹	叶绿素含量 (FW) / mg·g ⁻¹	
	来凤芥菜	四川黄籽
0	1.96 ± 0.04 ^d	1.84 ± 0.03 ^c
100	2.40 ± 0.03 ^a	2.24 ± 0.03 ^b
200	2.23 ± 0.02 ^b	2.30 ± 0.03 ^{ab}
300	2.14 ± 0.02 ^c	2.39 ± 0.04 ^a
400	1.68 ± 0.03 ^e	1.62 ± 0.04 ^d
500	1.20 ± 0.01 ^f	1.44 ± 0.03 ^e

1) 同列具有不同字母上标者为差异显著 ($p < 0.05$)

铬具有促进叶绿素合成的作用,但不同的植物适宜浓度不同。当土壤中铬处理达到 500 mg/kg 时,2 种油菜的叶绿素含量均明显降低,分别比对照降低

38.8%和21.7%,形态上也发生明显的变化,表现出植株变矮,叶片变小,叶色变淡甚至出现黄化现象,来凤芥菜表现尤为明显.由此可见,来凤芥菜叶绿素对铬胁迫较为敏感,而四川黄籽叶绿素则相对稳定,说明四川黄籽对铬胁迫有较强的抵抗能力.

2.3 铬胁迫对芥菜型油菜丙二醛含量的影响

MDA 积累量的高低反映了细胞膜脂过氧化作用的强弱.土壤中外源铬浓度较低时,2种油菜叶片的MDA积累量均出现降低现象,高浓度铬则MDA积累量明显增加(图1).来凤芥菜在200 mg/kg铬处理下,MDA含量值最低,并显著低于对照($p < 0.05$).尽管在200和300 mg/kg铬处理下的MDA含量与对照相比均差异显著($p < 0.05$),但二者之间差异不显著($p > 0.05$).四川黄籽在300 mg/kg铬处理下的MDA含量值最低,显著低于对照($p < 0.05$).而这2种油菜在400和500 mg/kg铬处理下的MDA含量却都显著高于对照($p < 0.05$).MDA含量在一定程度上反映植物的伤害程度,也反映植物的抗胁迫能力,也就是说在同一时期抗逆性强的植物MDA积累量低、变幅小;反之,抗逆性弱的植物MDA积累量高,变幅大.在各处理中,四川黄籽叶片MDA积累量明显比来凤芥菜的低,其变化幅度(30.6~34.8 nmol/g)也明显小于来凤芥菜(32.3~39.3 nmol/g),这可能是四川黄籽对铬胁迫下的膜脂过氧化具有较强的抵御能力的原因.

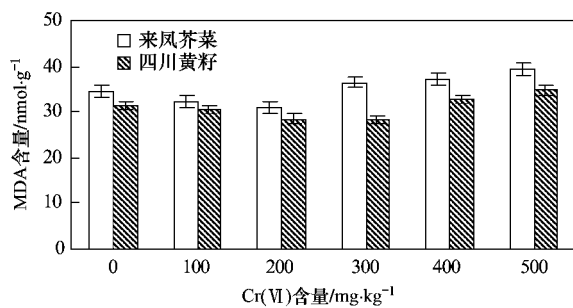


图1 Cr(VI)胁迫对芥菜型油菜丙二醛含量的影响

Fig.1 Effect of Cr(VI) stress on MDA content in leaves of *B. juncea*

叶绿素含量和MDA含量相关分析表明,铬胁迫条件下,来凤芥菜和四川黄籽叶片叶绿素含量分别与各MDA含量之间呈现显著负相关,相关系数分别为-0.85773和-0.96047,趋势线公式分别为 $y = -6.1657x + 47.047$, $y = -6.1613x + 43.198$.因此,铬胁迫下,芥菜型油菜的叶绿素含量的变化一方面可以反应出其叶片MDA含量的变化情况,另一方面也暗示了植株受铬胁迫的强弱.

2.4 铬胁迫对芥菜型油菜SOD、POD活性的影响

SOD是重要的清除活性氧的防御酶.SOD活性的升高反映了逆境胁迫下植物体内活性氧自由基增多,膜脂过氧化加剧.低浓度铬处理,增加2种油菜的SOD活性,高浓度铬则抑制其SOD活性[图2(a)],只是四川黄籽在铬处理超过400 mg/kg时才表现出下降的现象,而来凤芥菜却在超过300 mg/kg就表现出下降,说明2种油菜在一定程度上都能够通过提高SOD活性来抵御铬的胁迫,只是四川黄籽的抵御能力相对较强.高浓度的铬胁迫导致SOD活性下降,植物体内的活性氧自由基不能被有效清除,从而植物受到伤害.在500 mg/kg铬处理下,SOD迅速下降,这表明高浓度铬处理使植物产生了大量的自由基,这些自由基消耗了大量的SOD,使得植物体内的SOD活性大幅度下降.因此,SOD活性的变化可以较好地反映芥菜型油菜受铬胁迫的状况.

POD同SOD一样,也是植物抗氧化酶系统中重要的酶,它能将SOD的歧化产物 H_2O_2 分解成 H_2O .严重的逆境可能诱使植物产生更多的过氧化物,增强POD的活性.因此,较高的POD活性反映了植物组织受到更严重的损伤和破坏.随着土壤中外源铬含量的增加,芥菜型油菜叶片中POD活性逐渐升高[图2(b)].当铬含量为300 mg/kg时,来凤芥菜和四川黄籽的POD活性均达到最大值,分别比对照增加45.9%、51.4%.说明在同样的铬污染环境中,四川黄籽比来凤芥菜具有较强的耐受能力.当铬含量超过300 mg/kg时,2种油菜的POD活性迅速下降,说明此时铬胁迫超出了植物的耐受能力.

2.5 铬在芥菜型油菜叶片内的亚细胞分布

由表3可知,铬在2种油菜的亚细胞组间均呈不均匀分布,其中以细胞质的分配比例最高;其次为细胞壁;而在叶绿体和线粒体中铬含量较少.随着铬处理浓度增加,叶片铬总量和各亚细胞组分配比例显著增加,并且铬在细胞质和细胞壁中的分配比例也逐渐提高.当铬处理浓度超过200 mg/kg时,2种油菜细胞壁中铬的分配比例逐渐降低,细胞质中铬的分配比例增加幅度也逐渐减小,出现这种情况的可能原因是细胞质贮存铬的能力有限.二者比较,四川黄籽叶片富集铬的能力较强(31.34~90.36 mg/kg),并且富集的铬65.77%~76.42%分配于细胞质中,10.33%~27.87%分配于细胞壁中,而分配于叶绿体和线粒体中的则相对较少.来凤芥菜叶片富集铬的能力较弱,并且分配于细胞质中的

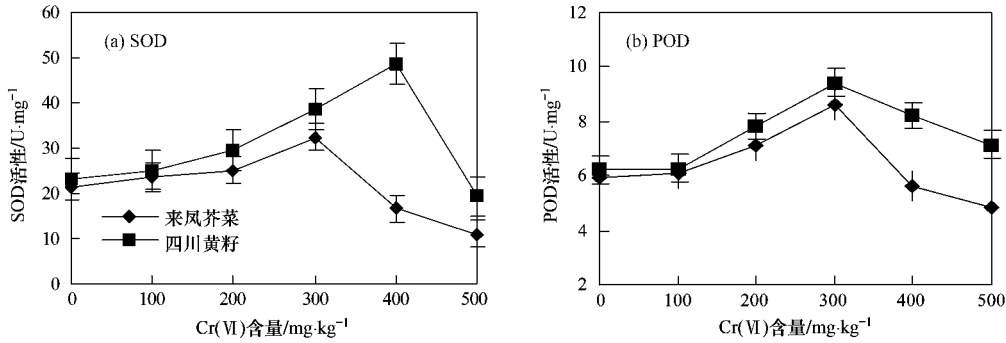


图 2 Cr(VI) 胁迫对芥菜型油菜 SOD、POD 活性的影响

Fig. 2 Effects of Cr(VI) stress on activities of SOD and POD in leaves of *B. juncea*

表 3 Cr(VI) 胁迫对芥菜型油菜叶片亚细胞 Cr 含量及其分配率的影响¹⁾

Table 3 Effect of Cr(VI) stress on contents and percent distributions of Cr in subcellular of leaves of *B. juncea*

Cr(VI) 浓度 /mg·kg ⁻¹	来凤芥菜叶片 Cr 的含量 /mg·kg ⁻¹				
	细胞壁	叶绿体	线粒体	细胞质	总量
0	0.32 ± 0.01 ^a (30.48) ²⁾	0.08 ± 0.00 ^a (7.62)	0.14 ± 0.00 ^a (13.33)	0.51 ± 0.02 ^a (48.57)	1.05 ± 0.01 ^a (100)
100	8.34 ± 0.11 ^a (27.34)	1.23 ± 0.01 ^a (4.03)	2.37 ± 0.01 ^a (7.77)	18.56 ± 0.23 ^a (60.85)	30.50 ± 0.31 ^a (100)
200	10.34 ± 0.12 ^a (22.57)	3.05 ± 0.02 ^a (6.66)	3.86 ± 0.18 ^a (8.43)	28.65 ± 0.24 ^b (62.54)	45.81 ± 0.23 ^a (100)
300	12.36 ± 0.34 ^b (21.23)	4.26 ± 0.21 ^b (7.31)	4.88 ± 0.06 ^a (8.38)	36.73 ± 0.35 ^b (63.08)	58.23 ± 0.94 ^b (100)
400	15.37 ± 0.61 ^c (22.17)	4.32 ± 0.25 ^c (9.53)	4.33 ± 0.30 ^a (6.24)	45.32 ± 0.56 ^c (65.36)	69.34 ± 0.79 ^c (100)
500	14.90 ± 0.36 ^c (18.34)	8.03 ± 0.25 ^c (9.89)	5.69 ± 0.21 ^b (7.01)	52.62 ± 0.84 ^c (64.77)	81.24 ± 0.98 ^c (100)
Cr(VI) 浓度 /mg·kg ⁻¹	四川黄籽叶片 Cr 的含量 /mg·kg ⁻¹				
0	0.41 ± 0.02 ^a (35.04)	0.12 ± 0.01 ^a (10.26)	0.16 ± 0.00 ^a (13.68)	0.48 ± 0.02 ^a (41.03)	1.17 ± 0.01 ^a (100)
100	8.76 ± 0.21 ^a (27.87)	0.74 ± 0.02 ^a (2.35)	1.26 ± 0.05 ^a (4.00)	20.67 ± 0.18 ^a (65.77)	31.43 ± 0.41 ^a (100)
200	10.57 ± 0.32 ^a (21.04)	1.43 ± 0.010 ^a (2.85)	1.59 ± 0.01 ^a (3.17)	36.64 ± 0.54 ^a (72.94)	50.23 ± 0.74 ^a (100)
300	11.35 ± 0.52 ^a (16.89)	2.36 ± 0.03 ^a (3.51)	3.27 ± 0.41 ^a (4.87)	50.23 ± 0.86 ^a (74.74)	67.21 ± 0.97 ^a (100)
400	13.17 ± 0.61 ^a (15.96)	3.66 ± 0.04 ^b (4.44)	3.34 ± 0.03 ^a (4.05)	62.27 ± 0.85 ^b (75.44)	82.54 ± 0.49 ^b (100)
500	9.33 ± 0.76 ^b (10.33)	7.24 ± 0.54 ^c (8.01)	4.73 ± 0.36 ^b (5.23)	69.06 ± 1.05 ^b (76.42)	90.36 ± 1.24 ^c (100)

1) 同列具有不同字母上标者为差异显著 ($p < 0.05$), 下同; 2) 括号中的数据为分配比例 (%)

量也相对较少,而在细胞壁、叶绿体和线粒体中的则相对较多.说明在铬处理条件下,不同种植物的亚细胞组分间铬的分配比例不同,从而导致其对铬的耐受能力不同.

2.6 铬胁迫对芥菜型油菜积累铬的影响

铬胁迫处理后 2 种油菜根、茎和叶表现出不同程度的铬积累现象(表 4).随着处理铬浓度的增大,

其根、茎和叶铬积累量呈增加的趋势,各处理间差异显著 ($p < 0.05$),并且表现为根 > 叶 > 茎,四川黄籽 > 来凤芥菜,地上部分(茎、叶)积累铬的量明显比根部低,说明根部积累的铬只有部分转移到了地上部分.当处理铬浓度为 500 mg/kg 时,尽管 2 种油菜植株均表现出受害症状,但其富集铬量仍然最高,来凤芥菜根、叶和茎积累铬量分别为 450、270 和

187 mg/kg,而四川黄籽根、叶和茎积累铬量分别为 483、287 和 253 mg/kg,明显比来凤芥菜多。

重金属迁移总量也是用来评价植物修复重金属污染地潜力的一个非常重要的指标.从表 4 可以看出,随着铬处理浓度的增加,2 种油菜单株地上部分的铬迁移总量均增加,但四川黄籽比来凤芥菜增加更明显,说明四川黄籽具有较强的耐铬能力.在铬处理浓度为 300 mg/kg 的土壤上,植株生长 70 d 后,平均每株来凤芥菜和四川黄籽地上部富集铬总量均达

最大值,分别为 1.71 和 2.81 mg/plant,相当于平均每株从土壤中带走的铬分别占土壤中全铬含量的 0.23% 和 0.38%.而地下部分根系尽管其中铬浓度高,但其量小,因而 2 种油菜单株根系富集铬的绝对量远远小于其地上部分.虽然这 2 种植物都不符合超富集重金属植物的要求,但综合考虑,由于四川黄籽对铬污染具有较强的耐受性、生长迅速、地上部分生物量大,因此,在铬污染土壤的植物修复中,四川黄籽仍具有潜在的应用价值.

表 4 Cr(VI)胁迫对芥菜型油菜富集 Cr 的影响

Table 4 Effects of Cr(VI) stress on Cr accumulation in *B. juncea*

Cr(VI) 浓度 /mg·kg ⁻¹	来凤芥菜						
	Cr 的含量与分布 /mg·kg ⁻¹			单株富集 Cr 量 /mg·plant ⁻¹			单株地上部对 Cr 的净化率 /%
	根	叶	茎	地上部	地下部	总计	
0	2.83 ± 0.04 ^f	2.19 ± 0.07 ^f	1.53 ± 0.06 ^f	0.02 ± 0.00 ^d	0.004 ± 0.00 ^f	0.03 ± 0.00 ^e	—
100	106.50 ± 1.20 ^e	67.93 ± 0.41 ^e	52.30 ± 2.07 ^e	0.87 ± 0.03 ^e	0.18 ± 0.01 ^e	1.04 ± 0.03 ^d	0.35
200	210.43 ± 1.90 ^d	114.33 ± 4.77 ^d	84.43 ± 1.93 ^d	1.18 ± 0.02 ^b	0.27 ± 0.01 ^d	1.44 ± 0.02 ^e	0.24
300	310.53 ± 2.98 ^e	167.30 ± 4.15 ^e	136.27 ± 2.57 ^e	1.71 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.00 ^e	2.08 ± 0.02 ^a	0.23
400	371.17 ± 4.99 ^b	198.60 ± 4.56 ^b	162.13 ± 1.09 ^b	1.65 ± 0.03 ^a	0.40 ± 0.01 ^b	2.05 ± 0.03 ^a	0.17
500	450.33 ± 4.16 ^a	270.93 ± 3.12 ^a	187.80 ± 4.45 ^a	1.14 ± 0.10 ^b	0.45 ± 0.01 ^a	1.59 ± 0.11 ^b	0.09

Cr(VI) 浓度 /mg·kg ⁻¹	四川黄籽						
	Cr 的含量与分布 /mg·kg ⁻¹			单株富集 Cr 量 /mg·plant ⁻¹			单株地上部对 Cr 的净化率 /%
	根	叶	茎	地上部	地下部	总计	
0	3.21 ± 0.11 ^f	2.41 ± 0.06 ^f	1.98 ± 0.05 ^f	0.03 ± 0.00 ^e	0.004 ± 0.00 ^e	0.03 ± 0.00 ^f	—
100	112.13 ± 3.57 ^e	75.04 ± 2.35 ^e	61.97 ± 1.74 ^e	0.94 ± 0.04 ^d	0.16 ± 0.01 ^d	1.10 ± 0.03 ^e	0.38
200	236.30 ± 7.89 ^d	143.03 ± 4.28 ^d	90.00 ± 3.25 ^d	1.77 ± 0.08 ^e	0.42 ± 0.02 ^e	2.19 ± 0.06 ^d	0.35
300	322.67 ± 2.58 ^e	197.60 ± 6.05 ^e	146.20 ± 5.31 ^e	2.81 ± 0.10 ^a	0.57 ± 0.02 ^a	3.38 ± 0.09 ^a	0.38
400	386.70 ± 3.12 ^b	226.70 ± 5.14 ^b	182.00 ± 2.73 ^b	2.68 ± 0.07 ^a	0.49 ± 0.01 ^b	3.17 ± 0.08 ^b	0.27
500	483.73 ± 2.44 ^a	287.97 ± 4.82 ^a	253.40 ± 6.69 ^a	2.02 ± 0.08 ^b	0.52 ± 0.04 ^{ab}	2.54 ± 0.10 ^e	0.16

3 讨论

铬影响植物的生长发育^[28,29].本研究表明,低浓度铬胁迫能够提高芥菜型油菜出苗率和生物量,但是当铬浓度超出一定范围时,其出苗率和生物量降低.四川黄籽对铬的耐受性明显比来凤芥菜强,当处理铬浓度达 300 mg/kg 时,来凤芥菜幼苗生物量比对照低,而对于四川黄籽来说,处理铬浓度达到 500 mg/kg 时,其幼苗生物量才表现比对照低,因此,不同的植物品种耐受铬的最大阈值不同,这与前人的研究结果相同^[30-32].高浓度铬抑制植物根细胞分化,阻碍水分吸收^[33],从而导致植株矮小,叶片泛黄,叶面积明显减少,生物量降低^[30,34,35],低浓度铬促进根、根毛的生长,增加根中髓质和外皮组织层的比例,促进植物的生长^[33].

叶绿素是植物进行光合作用的重要物质,其含量的多少直接标志着植物生长能力的强弱.前人的研究表明,低浓度铬胁迫促进叶绿素形成,而高浓度则抑制叶绿素的形成^[28,30-32,36-38].丙二醛(MDA)

是一种高活性的膜脂过氧化的产物,组织中 MDA 含量的多少是反映组织细胞膜损伤程度的灵敏指标,衰老和逆境引起组织中 MDA 含量的增加量与细胞膜损伤程度呈正相关,而叶绿素含量与 MDA 含量呈显著负相关^[39].本研究也获得了同样的结论,即低浓度铬对 2 种油菜叶绿素形成均有促进作用,而高浓度铬则表现抑制作用,并且叶绿素含量与 MDA 含量也呈现明显的负相关.由于 MDA 为高活性的脂过氧化物,通过交联脂类、核酸、糖类及蛋白质可影响质膜和叶绿体片层膜的结构和功能,影响膜的流动性及其与酶的结合力,从而影响位于片层上的叶绿素含量^[40].SOD、POD 是植物抗氧化酶系统中的关键酶,其活性直接影响到活性氧的生成和代谢.高活性抗氧化酶有利于提高植物对各种生物及非生物胁迫的耐受性^[41].本研究表明,低浓度铬处理,对 2 种油菜的 POD 和 SOD 活性均有增加的作用,而高浓度铬处理则表现抑制作用,导致 POD 和 SOD 活性降低.说明铬对二者的 SOD 和 POD 活性影响都有一个临界值,在临界值以内,随着铬浓度的

增加,SOD 活性均呈上升趋势,可能是由于铬刺激了植物体本身存在的 SOD 或者诱导合成新的 SOD,而 POD 为清除过多 H_2O_2 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。POD 活性升高的原因可能是由于植物体内铬达到一定浓度时,膜脂过氧化作用增强,导致植物体内过氧化物(如过氧化氢等)浓度增加,即 POD 的底物浓度增加,从而使 POD 活性上升。当铬含量超出临界值时,SOD 和 POD 活性呈现急剧下降趋势,这一结果暗示高浓度的铬胁迫下保护酶系统对活性氧的清除能力大大削弱,已不能阻止自由基在细胞内的积累,使膜发生膜脂过氧化,MDA 积累,膜透性增加,导致膜功能受损,从而引起细胞的衰老和死亡,对植物产生抑制效应甚至毒害作用。在铬胁迫下,与来凤芥菜比较,四川黄籽有较高的 SOD、POD 活性,表明四川黄籽有较强的耐铬能力。

重金属的亚细胞分布研究有助于确定该元素对细胞活动的影响。本研究结果表明,2 种油菜体内铬的主要贮存部位是细胞质,其次是细胞壁,而在叶绿体和线粒体中含量很低。杨德等^[42]研究富铬南瓜和普通南瓜富集铬的亚细胞分布发现,前者主要富集在细胞壁及残渣和可溶部分,具有生命活性的细胞器及膜部分含量较低,后者细胞器及膜部分铬的量较高,所占比例比富铬南瓜的高。在本研究中,四川黄籽叶片富集的铬分配于细胞质中的明显比来凤芥菜的多,而分配于叶绿体和线粒体中的则相对较少。细胞质组分中包含液泡、细胞液、核糖和蛋白等成分,因此,大量贮存于四川黄籽细胞质中的铬是否是被隔离在液泡中,从而减少了其毒性,提高了其对铬的耐受性,这些还有待于进一步研究。铬在叶绿体和线粒体中低的分配比例,有利于减少具有生命活性的原生质部分与铬接触的机率,使进行生命活动所需要的酶的活性不受影响,保证光合作用和呼吸作用正常进行,这也许是 2 种油菜对铬都有一定耐受性的原因。细胞壁是重金属进入细胞内部的第一道屏障,细胞壁中的多糖分子和蛋白质分子可与金属离子结合而贮藏部分金属,降低重金属对植物的毒害。植物耐重金属胁迫能力与其细胞壁与该金属的结合能力有一定的相关性^[43]。本研究表明,在低浓度铬处理条件下,2 种油菜叶富集的铬分配于细胞壁中的比例均较高。随着铬处理浓度的增加,四川黄籽细胞壁中结合铬的比例迅速下降,细胞质中铬含量增加,而来凤芥菜细胞壁中结合铬的比例降低较为缓慢,细胞质中铬含量也缓慢增加,这也许是这 2

种植物对重金属铬具有不同的解毒机制。

在本研究中,来凤芥菜和四川黄籽对铬的富集量随外源重金属铬含量的增加而增大,四川黄籽表现尤为突出。但是 2 种油菜富集于根中的铬浓度比地上部分(茎、叶)高,这与前人的研究结果一致^[29,30,44,45]。依据 Baker 等^[46]提出的参考值,铬超积累的临界含量是植株地上部的含量达到 1 000 mg/kg。在本试验中,当外源铬处理浓度达 500 mg/kg 时,四川黄籽茎、叶富集铬浓度达最高,分别为 253.40 和 287.97 mg/kg,说明这 2 种油菜都不属于超富集植物。当铬处理浓度达 300 mg/kg 时,平均每株来凤芥菜和四川黄籽地上部富集铬总量均达最大值,分别为 1.71 和 2.81 mg/plant,相当于平均每株从土壤中带走的铬分别占土壤中全铬含量的 0.23% 和 0.38%。因此,从单位面积地上部分的生物量、耐铬能力、单株地上部分富集铬量以及耐瘠薄等方面综合考虑,在铬污染土壤的植物修复中,四川黄籽仍具有潜在的应用价值。

4 结论

(1) 低浓度铬胁迫增加 2 种油菜的出苗率、生物量、叶绿素含量、SOD 和 POD 活性,高浓度却具有抑制作用,并且不同的植物最适浓度不同。但 2 种油菜叶片 MDA 累积量却呈现相反的规律,叶绿素含量与 MDA 累积量呈显著负相关。

(2) 2 种油菜叶片富集的铬主要分布于细胞质中,其次为细胞壁组分,而在叶绿体和线粒体中含量很低。但四川黄籽富集的铬分配于细胞质中的比例较高,而在细胞壁、叶绿体和线粒体中相对较少。

(3) 虽然 2 种油菜对铬的富集都没有达到超富集植物的标准,但从生物量、耐铬能力和单株地上部分富集铬量以及耐瘠薄等方面综合考虑,在铬污染土壤的植物修复中,四川黄籽仍具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] Bini C, Maleci L, Romanin A. The chromium issue in soils of the leather tannery district in Italy [J]. *Journal of Geochemical Exploration* 2008, **96**(2-3):194-202.
- [2] 赵晖,吕金印,张素娜,等. Cr^{6+} 胁迫对高丹草幼苗根质膜氧化及 ATPase 活性的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)* 2009, **37**(10):167-172.
- [3] Dube B K, Tewari K, Chatterjee J, et al. Excess chromium alters uptake and translocation of certain nutrients in citrullus [J]. *Chemosphere* 2003, **53**(9):1147-1153.
- [4] Sharma D C, Sharma C P, Tripathi R D. Phytotoxic lesion of chromium in maize [J]. *Chemosphere* 2003, **51**(1):63-68.

- [5] Ouelhadj A ,Kuschik P ,Humbeck K. Heavy metal stress and leaf senescence induce the barley gene *HvC2d1* encoding a calcium-dependent novel C2 domain-like protein [J]. *New Phytologist* , 2006 ,**170**(2) :261-273.
- [6] Dixit V ,Pandey V ,Shyam R. Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation *in vivo* in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria[J]. *Plant ,Cell & Environment* 2002 **25**(5) :687-693.
- [7] Choudhury S ,Panda S K. Toxic effects ,oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxitellium nepalense* (Schwaegr) Broth. under chromium and lead phytotoxicity [J]. *Water ,Air ,& Soil Pollution* 2005 **167**(1-4) :73-90.
- [8] Pandey V ,Dixit V ,Shyam R. Antioxidative responses in relation to growth of mustard (*Brassica juncea* cv. Pusa Jaikisan) plants exposed to hexavalent chromium [J]. *Chemosphere* ,2005 **61**(1) :40-47.
- [9] Sinha S ,Gupta A K ,Bhatt K. Uptake and translocation of metals in fenugreek grown on soil amended with tannery sludge: involvement of antioxidants[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2007 **67**(2) :267-277.
- [10] Deepa N ,Kaur C ,Singh B , *et al.* Antioxidant activity in some red sweet pepper cultivars [J]. *Journal of Food Composition and Analysis* 2006 **19**(6-7) :572-578.
- [11] Wang R ,Chen S ,Ma H , *et al.* Genotypic differences in antioxidative stress and salt tolerance of three poplars under salt stress[J]. *Frontiers of Forestry in China* 2006 **1**(1) :82-88.
- [12] Sairam R K ,Srivastava G C ,Agarwal S , *et al.* Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes [J]. *Biologia Plantarum* ,2005 **49**(1) :85-91.
- [13] 郑爱珍. 重金属 Cr 污染对辣椒幼苗生理生化特性的影响 [J]. *农业环境科学学报* ,2007 **26**(4) :1343-1346.
- [14] 张学洪 ,罗亚平 ,黄海涛 ,等. 一种新发现的湿生铬超积累植物——李氏禾 (*Leersia hexandra* Swartz) [J]. *生态学报* , 2006 **26**(3) :950-953.
- [15] 韦朝阳 ,陈同斌. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展 [J]. *生态学报* ,2001 **21**(7) :1196-1203.
- [16] 李志刚 ,梅利民 ,万雪芹 ,等. 低浓度重金属 Cr⁶⁺ 对紫狼尾草生理生化特性的影响 [J]. *广西农业科学* ,2009 **40**(5) :478-481.
- [17] 韩志萍. 铬铜镍在芦竹中的富集与分布 [J]. *环境科学与技术* 2006 **29**(5) :106-108.
- [18] 严明理 ,冯涛 ,刘丽莉 ,等. 模拟酸雨和 Pb 复合污染对芥菜型油菜的生理特性和 Pb 富集的影响 [J]. *环境科学学报* ,2009 **29**(10) :2172-2179.
- [19] Kumar P B A N ,Dushenkov V ,Motto H , *et al.* Phytoextraction: The use of plants to heavy metals from soils [J]. *Environmental Science & Technology* ,1995 **29**(5) :1232-1238.
- [20] Haag-Kerwer A ,Schäfer 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]. *Journal of Experimental Botany* ,1999 **50**(341) :1827-1835.
- [21] 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 [J]. *土壤学报* 2002 **39**(5) :664-669.
- [22] 赵世杰 ,许长成 ,邹琦 ,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. *植物生理学通讯* ,1994 **30**(3) :207-210.
- [23] 张志良. 叶绿素 a、b 含量测定 [A]. 见: 张志良 ,翟伟菁. *植物生理学实验指导* [M]. 北京: 高等教育出版社 2004. 67-70.
- [24] 袁晓华 ,杨中汉. *植物生理生化实验* [M]. 北京: 高等教育出版社 ,1983. 128-133.
- [25] 李合生. *植物生理生化实验原理和技术* [M]. 北京: 高等教育出版社 2000. 164-167.
- [26] 汤惠华 ,杨涛 ,胡宏友 ,等. 镉对花椰菜光合作用的影响及其在亚细胞中的分布 [J]. *园艺学报* 2008 **35**(9) :1291-1296.
- [27] 鲍士旦. *土壤农化分析* [M]. 北京: 中国农业出版社 ,2007. 263-278 ,394-398.
- [28] Gupta S ,Srivastava S ,Saradhi P P. Chromium increases photosystem 2. activity in *Brassica juncea* [J]. *Biologia Plantarum* 2009 **53**(1) :100-104.
- [29] Han F X ,Sridhar B B M ,Monts D L , *et al.* Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea* [J]. *New Phytologist* 2004 **162**(2) :489-499.
- [30] Dixit V ,Pandey V ,Shyam R. Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation *in vivo* in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria [J]. *Plant ,Cell & Environment* 2002 **25**(5) :687-693.
- [31] Sharma D C ,Sharma C P. Chromium uptake and toxicity effects on growth and metabolic activities in wheat *Triticum aestivum* L. cv. UP 2003 [J]. *Indian journal of experimental biology* ,1996 **34**(7) :689-691.
- [32] Pandey V ,Dixit V ,Shyam R. Antioxidative responses in relation to growth of mustard (*Brassica juncea* cv. Pusa Jaikisan) plants exposed to hexavalent chromium [J]. *Chemosphere* ,2005 **61**(1) :40-47.
- [33] Suseela M R ,Sinha S ,Singh S , *et al.* Accumulation of chromium and scanning electron microscopic studies in *Scirpus lacustris* treated with metal and tannery effluent [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 2002 **68**(4) :540-548.
- [34] Barcelo J ,Poschenrieder C ,Gunse B. Effect of chromium VI on mineral element composition of bushbeans [J]. *Journal of Plant Nutrition* ,1985 **8**(3) :211-217.
- [35] Shanker A K ,Djanaguiraman M ,Sudhagar R , *et al.* Differential antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. Cv CO 4) roots [J]. *Plant Science* 2004 **166**(4) :1035-1043.
- [36] 黄辉 ,童雷 ,苗芃 ,等. 铬污染地区芦苇 (*Phragmites australis* L.) 生理特征分析 [J]. *农业环境科学学报* ,2007 **26**(4) :1273-1276.
- [37] Sharma D C ,Chatterjee C ,Sharma C P. Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism [J]. *Plant Science* ,1995 **111**(2) :145-151.

- [38] Samantary S. Biochemical responses of Cr-tolerant and Cr-sensitive mung bean grown on varying levels of chromium [J]. *Chemosphere* 2002 **47**(10):1065-1072.
- [39] 严明理,冯涛,向言词,等. 轴尾沙对油菜幼苗生长和生理特征的影响[J]. *生态学报* **29**(8):4215-4222.
- [40] 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[J]. *作物学报* ,1997 **23** (3):370-375.
- [41] Vannini C ,Iriti M ,Bracale M *et al.* The ectopic expression of the rice *Osm4* gene in Arabidopsis increases tolerance to abiotic , environmental and biotic stresses [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 2006 **69** (1-3) :26-42.
- [42] 杨德 ,吕金印,程永安,等. 铬在南瓜中的亚细胞分布及对某些酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报* 2007 **26** (4) :1352-1355.
- [43] Kramer U ,Pickering I J ,Prince R C *et al.* Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species [J]. *Plant Physiology* 2000 **122** (4) :1343-1353.
- [44] Zayed A ,Lytle C M ,Qian H J ,*et al.* Chromium accumulation , translocation and chemical speciation in vegetable crops [J]. *Planta* ,1998 **206** (2) :293-299.
- [45] Panda S K. Chromium-mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedlings [J]. *Journal of Plant Physiology* 2007 **164** (11) :1419-1428.
- [46] Baker A J M ,Brooks R R ,Pease A J *et al.* Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) from Zaine [J]. *Plant and Soil* , 1983 **73** (3) :377-385.