

# 铀矿浸出液胁迫对绿豆种子萌发和幼苗生长及其抗氧化酶活性的影响

聂小琴, 丁德馨, 李广悦, 吴彦琼, 刘玉龙, 胡劲松, 王友团

(南华大学铀矿冶生物技术国防重点学科实验室, 湖南 衡阳 421001)

**摘要** 采用培养皿光照培养箱培养方法,研究了不同浓度铀矿浸出液胁迫对绿豆种子的萌发、幼苗及其根系的早期生长以及体内超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明,铀矿浸出液的浓度 $\leq 10\%$ 时,胁迫对绿豆种子的萌发率没有影响,但加快了种子的萌发势,显著激发了绿豆幼苗及其根系的生长( $P < 0.05$ );浓度 $< 10\%$ 时,铀矿浸出液胁迫显著增加了绿豆幼苗及其根系 SOD 的活性( $P < 0.05$ ),但它们的 CAT 活性接近对照;浓度 $= 10\%$ 时,铀矿浸出液胁迫显著增加了幼苗及其根系 CAT 的活性( $P < 0.05$ );浓度 $= 100\%$ 时,铀矿浸出液胁迫显著抑制了种子的萌发势( $P < 0.05$ ),最终的萌发率只能达到 60%,幼苗及其根系不能正常生长,它们的 SOD 和 CAT 活性远远低于对照。

**关键词** 绿豆(*Phaseolus vulgaris* L.), 铀矿浸出液, 种子萌发, 幼苗生长, 抗氧化酶

中图分类号: Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2009)04-0789-07

## Effects of the Stress from Uranium Pregnant Solution on Seed Germination and Seedling's Growth and Antioxidant Enzymes Activities of Mung Bean

NIE Xiao-qin, DIND De-xin, LI Guang-yue, WU Yan-qiong, LIU Yu-long, HU Jin-song, WANG You-tuan

(Key Discipline Laboratory for National Defense for Biotechnology in Uranium Mining and Hydrometallurgy, University of South China, Hengyang 421001, China)

**Abstract** Mung bean is one of the key edible beans in China. It is very important to prevent it from being polluted by radioactive nuclides. In this paper, the uranium pregnant solution from leaching of uranium ore was used to study the effects of the stress from the solution on the seed germination, the early growth of the seedling and its root and their superoxide dismutase and catalase activities. The research results showed that, when the proportion of the uranium pregnant solution in its dilution was less than or equal to 10%, the dilution would promote the seed's germination potential but would not affect its germination rate and would stimulate the growth of the seedling and its root significantly. When the proportion was less than 10%, the dilution would activate the superoxide dismutase of the seedling and its root obviously, but would have little effect on their catalase activity. When the proportion was 10%, the dilution would activate the catalase activity of seedling and its root; And that, when the proportion was 100%, the seed's germination potential would be inhibited significantly, the final germination rate could only reach 60%, seedling and its root could not grow as normal and their superoxide dismutase and catalase activities would be much lower than those of seedling and root cultivated in distilled water for comparison.

**Keywords** mung bean; uranium pregnant solution; seed germination; seedling's growth; antioxidant enzyme

铀矿开采和铀矿水冶往往使土壤遭放射性核素污染,土壤中的放射性核素不仅对环境产生辐照危害,而且通过生物圈进入食物链,危及生态系统的稳

定,造成内照射,给人类的生命和健康带来巨大的威胁<sup>[1]</sup>。绿豆是我国重要的食用豆,在种植业结构调整和优质、高效农业发展中具有重要作用。随着人们膳食结构的调整和保健意识的增强,作为医食兼用的重要资源,绿豆在现代功能型食品开发中的地位迅速上升。铀尾矿对水稻等作物抗氧化酶的影响<sup>[3-5]</sup>已有文献报道,但铀矿浸出液对绿豆的抗氧化酶的影响作物防护效应尚未见报道。本文首次报道了以不同浓度铀矿

收稿日期: 2008-08-05

作者简介: 聂小琴(1985—),女,四川安县人,硕士,主要从事放射性土壤污染的植物修复研究。E-mail: xiaoqin\_nie@163.com

通讯作者: 丁德馨 E-mail: dlingdxzz@163.com

浸出液为受试污染物,模拟在铀矿污染所引起的放射性和化学性双重毒害下绿豆种子萌发率和早期生长过程中幼苗和根系的生长势等生长指标以及体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等生理指标的变化,以为放射性核素污染的治理及制定相应的卫生标准提供基础数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

铀矿出液取自某铀矿柱浸试验的浸出液,其成分见表 1。

表 1 铀矿浸出液的化学组成

Table1 Chemical compositions of the uranium pregnant solution

| 项目 Item                  | 含量 Content/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ | 项目 Item                 | 含量 Content/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ |
|--------------------------|------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------|
| 铀(U)                     | 2.205                                    | 钼(Mo)                   | 0.003                                    |
| 铁(Fe)                    | 2.432                                    | 二价铁( $\text{Fe}^{2+}$ ) | 0.838                                    |
| 铝(Al)                    | 1.094                                    | 钒(V)                    | 0.063                                    |
| 镁(Mg)                    | 0.762                                    | 氟(F)                    | 0.032                                    |
| 总硫( $\text{SO}_4^{2-}$ ) | 20.245                                   | 钙(Ca)                   | 0.386                                    |

### 1.2 试验设计

试验设 10 个胁迫浓度和一个对照 CK(表 2) 4 次重复。10 个胁迫浓度分别由蒸馏水稀释铀矿浸出液得到,对照为蒸馏水处理。

选择本地选育的名优绿豆(*Phaseolus radiatus* L.) 品种为材料,种子由衡阳种子公司提供,在绿豆萌发和幼苗二叶一心时期,测定、分析了在铀矿浸出液胁迫下绿豆种子萌发和生长的相关生长和生理参

表 2 供试液的 pH 值和其中的铀矿浸出液的浓度

Table 2 The pH values and uranium pregnant solution concentrations in dilutions for experiment

| 处理编号<br>Treatment No. | 铀矿浸出液浓度/%<br>The content of uranium<br>pregnant solution | 铀浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$<br>Uranium content | pH 值<br>pH value |
|-----------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------|
| TS1                   | 100.0                                                    | 2 200                                                 | 3.53             |
| TS10                  | 10.0                                                     | 220                                                   | 3.80             |
| TS15                  | 6.7                                                      | 146                                                   | 4.01             |
| TS30                  | 3.3                                                      | 73                                                    | 4.27             |
| TS45                  | 2.2                                                      | 49                                                    | 4.32             |
| TS50                  | 2.0                                                      | 44                                                    | 4.46             |
| TS60                  | 1.7                                                      | 37                                                    | 4.58             |
| TS75                  | 1.3                                                      | 29                                                    | 4.60             |
| TS100                 | 1.0                                                      | 22                                                    | 4.89             |
| TS200                 | 0.5                                                      | 11                                                    | 7.13             |
| CK                    | 0                                                        | 0                                                     | 7.13             |

数——种子萌发率、根系生长状况、幼苗鲜重和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性等指标。

种子经清水漂洗选种后,用 0.2%  $\text{HgCl}_2$  溶液消毒 10 min,再用双蒸水冲洗干净,精选饱满、色泽均一的绿豆种子分别播种在预选准备好的 10 组  $D=10\text{ cm}$  的培养皿中,培养皿预先经  $121\text{ }^\circ\text{C}$  下灭菌 15 min,  $55\text{ }^\circ\text{C}$  下干燥后各内垫两层大小合适的滤纸,每皿播 20 粒种子,注意种子之间互相不接触,再分别加入 5 mL 相应浓度的溶液润湿,加盖,置于 GZX-300BSH-型光照培养箱中培养,光照强度为  $1\text{ }700\text{ lx}$ ,光照时间  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ ,温度  $28\text{ }^\circ\text{C}$ (昼)/ $22\text{ }^\circ\text{C}$ (夜),相对湿度 55 % RH,此后每日加入适量相应浓度的溶液,以保持滤纸的湿润,记录好加液量及生长状况,同时在培养不同时段测定生长生理指标。

### 1.3 测定指标与测定方法

(1)种子萌发率的测定:种子萌发以胚根突破种皮 1 mm 计为准,在培养后第 5、10、25、50 和 100 h 统计各处理浓度的种子萌芽率。

(2)幼苗根长的测定:在培养后的第 25、50、75、100 和 125 h,用精密不锈钢米尺测定主根的生长长度(以最长根长计)。

(3)幼苗鲜重的测定:幼苗长至二叶一心期,液中取出,根系先用蒸馏水冲洗,再在  $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)溶液中交换 30 min,以去除根系表面粘附的金属离子,再用去离子水冲洗干净,吸水纸吸干表面水分,将地上部和根系分开,用精密电子天平测定绿豆幼苗地上部和根系的鲜重。

(4)SOD 活性的测定:预先配置  $1\text{ }000\text{ mL}$  pH 7.4  $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl  $0.000\text{ }1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDTA-2Na,  $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖 0.8 % NaCl 溶液作为匀浆介质。待幼苗长至二叶期,分别准确称取 0.5 g 幼苗地上部和根系,剪碎,加入预冷的均浆介质 1.5 mL,于冰浴中的研钵内研磨成匀浆,再分别用 1.5 mL 的研磨介质冲洗两次,转移至 5 mL 离心管中,于  $2\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  下冷冻离心 15 min,上清液即为 SOD 酶粗提液。采用南京建成生物工程研究所研制的超氧化物歧化酶活性测定试剂盒——黄嘌呤氧化酶法, SOD 活力以活力单位/毫升( $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ )表示。

(5)CAT 活性的测定:待幼苗长至二叶期,分别准确称取 1.0 g 幼苗和根系,按 1:5( $m\cdot V$ )加预冷的 pH 值为 7.8  $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸缓冲液 5 mL,于冰浴中的研钵内研磨成匀浆,于  $8\text{ }500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  冷冻离心 30 min,上清液即为过氧化氢酶 CAT 的粗提液。参照文献[6]

的方法, CAT活性的测定采用高锰酸钾滴定法。CAT活力用每克鲜重样品1 min内分解 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的毫克数表示, 即 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

#### 1.4 数据分析

试验数据用统计学的方法进行处理, 所给结果均为4次重复平均数, 对数据进行单因素方差分析、相关分析与 $t$ 检验, 分析各处理组与对照组的差异显著性。其中种子萌发研究中的数据为百分数, 经平方根反正旋变换后进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 铀矿浸出液胁迫对绿豆种子萌发率的影响

试验结果表明, 铀矿浸出液胁迫对绿豆种子萌发率的影响表现出明显的剂量效应。由图1可以看出, 在种子萌发初期, 铀矿浸出液对绿豆种子萌发有一个低浓度下的刺激效应。差异显著性检验结果显示, 在种子萌发20 h时,  $\leq 10\%$ 浓度的铀矿浸出液对绿豆种子的萌发均有显著的刺激效应( $P < 0.05$ )。随着铀矿浸出液浓度的增加, 刺激效应逐渐转为抑制效应, 当铀矿浸出液的浓度=100%时, 绿豆种子的萌发率为零, 表现为极显著的抑制效应( $P < 0.01$ )。随着萌发时间的延长, 低浓度下的刺激效应也逐渐消失。当种子萌发第25 h时, 低浓度下的刺激效应消失, 浓度=6.7%的铀矿浸出液对绿豆种子的萌发表现为显著的抑制效应( $P < 0.05$ ), 且随着浓度升高, 抑制效应逐渐增加。当种子萌发后第50 h时, 对照的萌发率达到100%, 浓度为100%、10%和6.7%的萌发率分别为60%、70%

和83%, 其余各低浓度的萌发率均达到100%。当种子萌发至100 h时, 除浓度=100%的萌发率仍为60%外, 其余各浓度的萌发率均达到100%。

在试验中还发现, 100%浓度胁迫的绿豆种子, 在加入初期即表现出种皮颜色明显加深, 呈墨绿色状, 萌发率和萌发势均明显受抑制。各浓度铀矿浸出液胁迫绿豆种子的萌发率先后顺序为:  $2.2\% > 2.0\% > 1.3\% > 3.3\% > 1.7\% > 6.7\% > 1\% > 0.5\% > \text{CK} > 10\% > 100\%$ 。

### 2.2 铀矿浸出液胁迫对绿豆根系生长的影响

试验结果表明, 铀矿浸出液胁迫对绿豆根长的影响亦表现出明显的剂量效应。由图2可以看出, 在种子萌发期间, 铀矿浸出液对绿豆根系生长有一个低浓度下的刺激效应。差异显著性检验结果显示, 在种子萌发50、75、100及125 h时,  $\leq 15\%$ 浓度的铀矿浸出液对绿豆种子的萌发均有显著的刺激效应( $P < 0.05$ ), 且刺激效应在浓度为2%~2.2%内时达到极显著水平( $P < 0.01$ )。随着铀矿浸出液浓度的增加, 刺激效应逐渐减弱, 当浓度=10%时, 主根的生长长度与生长态势与对照大致相当, 当铀矿浸出液的浓度=100%时, 刺激效应转为抑制效应, 绿豆种子的根完全不能生长, 表现为强烈的毒害效应。随着时间的延长, 绿豆亦不能解除毒害。各浓度铀矿浸出液胁迫绿豆主根生长长度的顺序为:  $2.2\% > 2.0\% > 1.3\% > 3.3\% > 1.7\% > 6.7\% > 1\% > 0.5\% > 10\% > \text{CK} > 100\%$ 。

### 2.3 铀矿浸出液胁迫对绿豆生物量的影响

试验结果表明, 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗和根系鲜重的影响也表现出明显的剂量效应。由图3可以

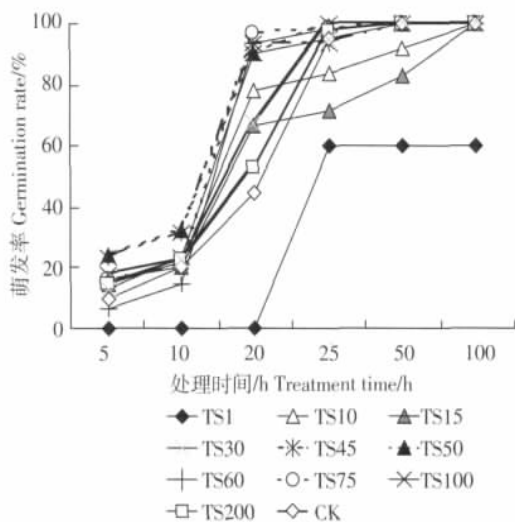


图1 铀矿浸出液胁迫对绿豆种子萌发率的影响

Figure 1 Effects of the stress from uranium pregnant solution on seed germination rate of mung bean

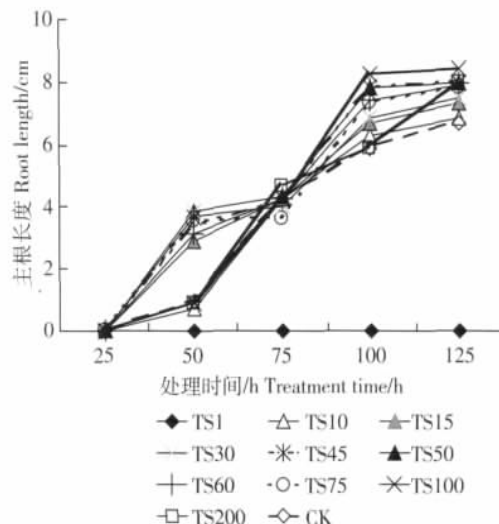


图2 铀矿浸出液胁迫对绿豆主根长度的影响

Figure 2 Effects of the stress from uranium pregnant solution on the length of main root of mung bean

看出,在种子萌发至 125 h 期间,即幼苗生长至二叶一心时期,铀矿浸出液对绿豆幼苗生长也有一个低浓度下的刺激效应。且刺激效应随着浓度的增大而加强,浓度=2%左右时表现为极显著刺激效应( $P<0.01$ )。超过此浓度,随着浓度的增大刺激作用有所减弱,在浓度 $\leq 10\%$ 的铀矿浸出液对绿豆幼苗地上部生长均有显著的刺激效应( $P<0.05$ )。当铀矿浸出液的浓度=100%时,绿豆幼苗地上部和根系均不能正常生长。各浓度铀矿浸出液胁迫绿豆幼苗生物量的顺序为  $2.2\%>2.0\%>1.3\%>3.3\%>1.7\%.10\%>6.7\%>1\%>0.5\%>CK>100\%$ 。

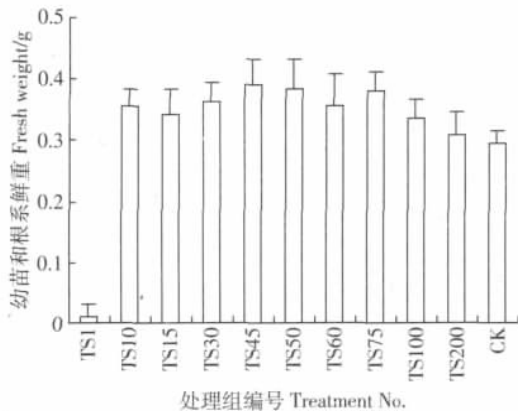


图3 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗鲜重的影响

Figure 3 Effects of the stress from uranium pregnant solution on fresh weight of seedling of mung bean

#### 2.4 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗和根系 SOD 活性的影响

SOD 是细胞内自由基清除系统中一个关键性酶,在保护细胞器免遭活性氧损害中起至关重要的作用。试验结果表明,绿豆幼苗地上部的 SOD 活性均大于根系的活性,而且绿豆幼苗地上部的 SOD 对铀矿浸

出液的胁迫更为敏感。从图 4 可以看出,在低浓度胁迫时,绿豆幼苗地上部的 SOD 活性随着铀矿浸出液胁迫浓度的增加而增强,活性在浓度为 2% 的胁迫时高出对照 20%,达到最大值。当浓度再增加时 SOD 活性有所降低,但高于对照,当浓度为 10% 时,活性与对照相当。而在浓度为 10%~30% 内的铀矿浸出液胁迫下,绿豆幼苗根系 SOD 活性也显著增强( $P<0.05$ ),尤其是当铀矿浸出液的浓度为 15% 时,即溶液中铀浓度为  $146 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,绿豆幼苗根系的 SOD 活性达到最高,比对照组高出 18%,但当用 100% 浓度的浸出液处理绿豆种子,即 U 浓度为  $2.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,试验选取改组种子的胚芽和种子部分进行分析,结果表明,在二叶期其幼苗和根系的 SOD 活性均受到严重毒害,分别仅为对照活性的 80% 左右。

当溶液中 U 浓度在  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  左右时,此胁迫浓度能显著诱导绿豆幼苗及根系体内的 SOD 活性的增加( $P<0.05$ ),以抵抗由于铀矿浸出液胁迫造成体内  $\text{O}_2$  的增加,从而减弱活性氧对脂膜的过氧化作用。随着浓度的降低诱导作用有所减弱;当溶液 U 浓度为  $220 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,其幼苗部分的 SOD 活性与对照接近,根系部分的活性略受激发;当溶液 U 浓度达到  $2200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理绿豆种子时,其胚芽和种子部位的 SOD 活性显著降低,绿豆的 SOD 酶活性表现为强烈地被抑制。说明对于低浓度的铀矿浸出液胁迫下,绿豆体内 SOD 的相应提高可能起到了一定的清除活性氧的作用,高浓度的胁迫下绿豆体内 SOD 活性的下降可能导致活性氧清除系统遭到破坏,活性氧清除能力下降,膜脂过氧化程度加剧。

#### 2.5 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗地上部和根系 CAT 活性的影响

试验结果表明,绿豆幼苗地上部的 CAT 活性均大于根系的活性,而且绿豆幼苗地上部的 CAT 对铀矿浸出液的胁迫更为敏感。根系 CAT 活性变化整体趋势与幼苗地上部的变化大致相当。不同浓度的铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗地上部和根系 CAT 活性的影响见图 5,在 5%、6.7% 及 10% 浓度胁迫下幼苗地上部 CAT 活性诱导率分别为 3.8%、11.3%、20.8%,表明在 U 浓度为  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液胁迫下,绿豆幼苗地上部的 CAT 活性增加,以抵抗由于铀矿浸出液胁迫造成体内  $\text{H}_2\text{O}_2$  的增加,从而减轻活性氧对脂膜的过氧化作用。当浓度为 2% 的铀矿浸出液胁迫时,绿豆幼苗地上部和根系的 CAT 活性均表现为显著的抑制效应( $P<0.05$ ),抑制率为 26.2%,而此浓度下幼苗体内

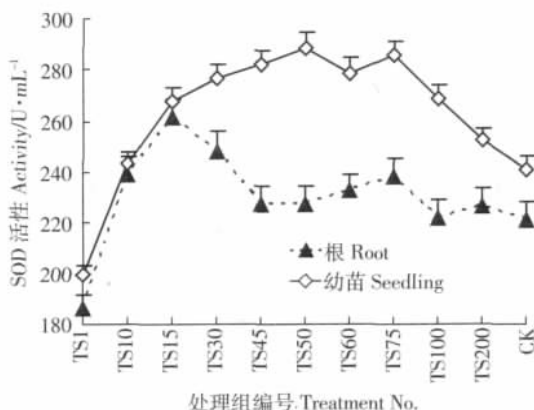


图4 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗和根系 SOD 活性的影响

Figure 4 Effects of the stress from uranium pregnant solution on SOD activity of seedling and its root of mung bean

的 SOD 活性为最大。抑制效应随着浓度的降低逐渐减弱,但随着浓度的增加而增强。当铀矿浸出液浓度为 100% 时,绿豆胚芽和种子内的 CAT 活性远远小于对照 ( $P < 0.01$ ),抑制率达到 55.9%,CAT 活性的降低表明绿豆体内膜的严重损伤。

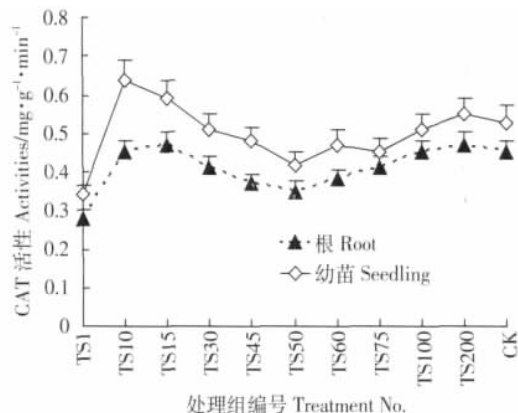


图 5 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗和根系 CAT 活性的影响  
Figure 5 Effects of the stress from uranium pregnant solution on CAT activity of seedling and its root of mung bean

### 3 讨论与结论

#### 3.1 铀矿浸出液胁迫对绿豆种子萌发和早期生长的影响

绿豆种子萌发是在适宜的温度、湿度、氧气条件下,活细胞通过酶的催化作用,把储存于胚乳中的淀粉分解为可溶性葡萄糖,储藏的蛋白质分解为氨基酸等可溶物,通过种子盾片上皮细胞吸收转运入胚体进行呼吸代谢,构建新的胚细胞,促进胚细胞数增多,体积增大不断生长的过程。一般认为,在此过程中,淀粉酶是一个关键酶,其活性大小与种子萌发生长呈正相关。本试验研究结果表明,铀矿浸出液胁迫下,绿豆种子的萌发势受到抑制,且抑制作用随着铀矿浸出液浓度的增加而增强,表现在萌发率、幼苗生长和根长 3 个方面。铀矿浸出液对绿豆是一种逆境,但是由于铀浸出液既有一些不利于植物生长的放射性元素和重金属元素,同时又比一般土壤中富含氮、磷、铁、镁等利于植物生长的矿质,当处理液浓度控制在一个合适的比例时,植物的长势最好,低剂量铀的生物毒性较小<sup>[5]</sup>。本实验得出铀矿浸出液对绿豆种子萌发率、幼苗和根系早期生长的影响均呈现出明显剂量效应的结果,恰好证实了这一点。本研究中,铀矿浸出液浓度低于 10% 的胁迫下,绿豆的萌发率不受影响,且在处理前期加快其萌发势,而对绿豆幼苗和根系的早期生长也有明显的促进作用 ( $P < 0.05$ ),尤其是当铀矿浸出液

中 U 的浓度在 50~150 mg·L<sup>-1</sup> 之间的浸出液对绿豆的主根伸长和幼苗鲜重都表现为显著的激发效应 ( $P < 0.05$ )。另近来有学者把这种低浓度毒物刺激生长的现象与所谓的“毒物兴奋效应”相联系,即由生物体对胁迫响应的“过渡补偿”引起的<sup>[7]</sup>。宏观上观察到的生长刺激现象可归因于低剂量毒物对细胞分裂与增殖的促进效应,这种促进效应在动物和植物细胞培养试验中都被观察到。当 100% 浓度的铀矿浸出液胁迫时,此时溶液 U 浓度达到 2 200 mg·L<sup>-1</sup>,绿豆无法解除放射性和化学性双重毒害的作用,萌发势和萌发率都显著被抑制 ( $P < 0.05$ ),此时绿豆种子的萌发率仅为 60%,并且幼苗和根系均完全不能生长 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.2 铀矿浸出液胁迫对绿豆幼苗体内保护酶活性的影响

铀矿浸出液的胁迫下,绿豆体内自由基积累影响了绿豆体内活性氧代谢的平衡,破坏和降低了活性氧清除剂(抗氧化酶)的产量,增加了活性氧,活性氧等自由基能引起脂膜过氧化作用,破坏膜及细胞的正常生理过程。生物体内存在着一个防止自由基破坏的膜保护系统——抗氧化系统, SOD (超氧化物歧化酶)、CAT (过氧化氢酶)就是这个系统中的两种重要保护酶。SOD 清除 O<sub>2</sub> 而形成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT 则是催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 形成 H<sub>2</sub>O,有效地阻止 O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在体内的积累,排除它们对细胞膜结构潜在伤害的可能性<sup>[2]</sup>。有文献报道<sup>[5]</sup>,胁迫程度的加强会导致作物幼苗的根系分泌物以及根际微生物的数量和功能发生改变,从而引起作物根际土壤 pH 和氧化还原电位的改变,而根系分泌物的螯合、络合作用以及氧化还原电位的改变对污染物的生物有效性和毒害性有重要影响,例如根分泌物中有有机酸对结合 Fe<sup>3+</sup>、Zn<sup>2+</sup> 有较重要的作用,而氨基酸却对 Cu<sup>2+</sup> 的溶解性有着重要贡献。另外,有研究认为<sup>[3-5]</sup>,铀矿浸出液的复合作用是导致农作物体内酶活力的抑制或激活的主要原因,然而何种机制起主导作用及其影响程度分别有多大,还有待进一步研究。逆境胁迫会促进植物体内活性氧产生增加。正常情况下,植物细胞中活性氧的产生和清除两个过程处于平衡状态,而逆境胁迫下植物体内活性氧增加,增加的活性氧一方面诱导有关的保护酶如 SOD、CAT 等活性升高,另一方面还可以直接破坏生物大分子,使酶活性丧失。表现为低强度胁迫条件下,植物体内酶活性随胁迫程度增加而上升,当胁迫程度超出植物体忍耐范围之后,胁迫程度越高,酶活性越低<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,铀矿浸出液胁迫浓度在 10%~100% 间是介于绿豆

体内能顺利清除增加的活性氧与降低活性氧清除剂产量之间的平衡剂量阈值,具体表现为在 $\leq 10\%$ 浓度的铀矿浸出液胁迫下,即溶液U浓度 $\leq 220 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 绿豆幼苗地上部和根系的SOD活性均比对照增强( $P < 0.05$ ),而在100%浓度的铀矿浸出液胁迫下,即溶液的U浓度达到 $2\,200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时绿豆幼苗体内的SOD活性均显著地被抑制( $P < 0.05$ )。表明在U浓度达到 $2\,200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液胁迫下,绿豆无法解除此毒害作用,体内抗氧化系统完全被破坏。

从各浓度胁迫下幼苗地上部和根系的SOD和CAT活性变化特征来看,幼苗地上部的保护酶活性均高于根系,并且地上部保护酶活的变化范围也明显大于根系,说明绿豆幼苗对铀矿浸出液的胁迫更为敏感;从SOD和CAT酶活性的变化幅度来看,说明绿豆体内SOD对铀矿浸出液的胁迫反应更为明显;从SOD和CAT活性变化趋势来看,表明绿豆体内CAT、SOD活性的变化趋势基本一致,在高浓度下被抑制, $\leq 10\%$ 浓度的铀矿浸出液即在溶液中U浓度小于 $220 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的胁迫下,绿豆体内保护酶活性均受到不同程度的诱导。

在细胞中甚至在适宜的条件下 $^1\text{O}_2$ 和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 都以非常高的速率被合成<sup>[9]</sup>。 $^1\text{O}_2$ 和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的主要毒性在于它们能发起导致羟自由基和其他破坏性化合物例如脂质过氧化物的产生<sup>[10]</sup>。植物中酶促ROS清除机制包括SOD、APX和CAT。SOD作为抵御ROS的第一道防线起作用,歧化 $^1\text{O}_2$ 成为 $\text{H}_2\text{O}_2$ 。随后APX和CAT使 $\text{H}_2\text{O}_2$ 去毒<sup>[11-12]</sup>。在许多逆境条件下,植物体内活性氧代谢系统的平衡会受到影响,活性氧如 $\text{O}^{2-}$ 、OH、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $^1\text{O}_2$ 等的产生量增加。体内活性氧含量的升高能启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,从而破坏膜结构。因此,植物体内的活性氧清除剂的含量或活性水平的高低对植物的逆境能力具有十分重要的意义。SOD在C3和C4植物的叶绿体、线粒体和细胞质中都有分布。SOD活性的增强,表明绿豆幼苗清除 $\text{O}^{2-}$ 的能力有所提高。也有研究表明,生物体合成SOD常受 $\text{O}^{2-}$ 的浓度影响,在 $\text{O}^{2-}$ 的诱导下,SOD的生物合成能力升高<sup>[13]</sup>。说明只要植物体受到不利于植物生长因素的干扰,植物体就能启动自身的保护机制,来最大限度地减少伤害。但当胁迫程度过于严重时,植物的自身调节系统被破坏,从而导致SOD酶活性有所降低,这应该是低浓度胁迫的SOD活性高于高浓度胁迫的原因之一。

从上述结果还可看到另一个需要注意的问题,即

绿豆幼苗在遭受铀矿浸出液胁迫后,地上部酶活性的变化与幼苗鲜量和根系生长的变化趋势基本一致,尤其是在 $\leq 10\%$ 浓度的铀矿浸出液胁迫下,绿豆幼苗的地上部和根系的生长均表现出显著激发效应,其SOD活性也显著被激发,且激发效应都在浓度为2%左右达到最大。这说明在绿豆幼苗受到铀矿浸出液胁迫时,SOD酶活性的变化是比较敏感的生物指标。

绿豆幼苗遭受铀矿浸出液胁迫后,根系CAT活性整体趋于下降,地上部CAT活性略高于对照。这与地上部所受的伤害远远小于根系有关。值得注意的还有,铀矿浸出液胁迫后地上部CAT活性的变化很不显著,但SOD活性的变化却十分剧烈(图4)。这表明铀矿浸出液胁迫后,植物体内更多的是诱导SOD的合成。这是否表明,绿豆幼苗在遭受铀矿浸出液胁迫后,活性氧代谢系统失调的主要产物是 $\text{O}^{2-}$ ,而非 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,所以这两种抗氧化保护酶中SOD可能在消除活性氧、降低膜脂过氧化程度方面起到更重要的作用,抑或是绿豆抗氧化酶体系中APX被诱导所致,尚需试验进一步证实。

#### 参考文献:

- [1] 田军华, 曾敏, 杨勇, 等. 放射性核素污染土壤的植物修复[J]. 四川环境, 2007, 26(5): 93-96.  
TIAN Jun-hua, ZENG Min, YANG Yong, et al. Phytoremediation of soil contaminated with radionuclides[J]. *Sichuan Environment*, 2007, 26(5): 93-96.
- [2] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd, Pb胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 38-42.  
YAN Chong-ling, HONG Ye-tang, FU Shun-zhen, et al. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco[J]. *Acta Ecol. Sinica*, 1997, 17(5): 38-42.
- [3] 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[J]. 作物学报, 2004, 30(6): 626-628.  
YI Su, WANG Rui-lan, WANG Qiong, et al. Effects of uranium tail stress on chlorophyll content and MDA content and activity of SOD in rice seedlings[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2004, 30(6): 626-628.
- [4] 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[J]. 作物学报, 2005, 31(8): 1064-1068.  
WANG Rui-lan, WANG Qiong, YI Su, et al. Effects of uranium tail stress on chlorophyll content and chlorophyll contents and protective enzymes in rice and wheat seedlings[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2005, 31(8): 1064-1068.
- [5] 易俗, 王瑞兰, 汪琼, 等. 铀尾矿浸出液对蚕豆(*Vicia faba*)早期生长的影响[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2007, 22(4): 113-116.  
YI Su, WANG Rui-lan, WANG Qiong, et al. Effects of uranium tailings lixivium on early growth of *Vicia faba*[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007,

- 22(4) :113–116.
- [6] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京 :农业出版社, 1992 :136–216.  
ZHANG Xian-zheng. Crop physiology research[M]. Beijing :Agriculture Publishing House, 1992 :136–216.
- [7] Aina R, Labra M, Fumagalli P, et al. Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots[J]. *Environ Exp Bot*, 2007, 59 :381–392.
- [8] 杨淑慎, 高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老[J]. 西北植物学报, 2001, 21(2) :215–220.  
YANG Shu-shen, GAO Jun-feng. Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2001, 21(2) :215–220.
- [9] 贾海霞, 郭红岩, 尹 颖, 等. 开放式空气 CO<sub>2</sub> 浓度增加条件下水稻对土壤微污染铜胁迫响应[J]. 科学通报, 2007, 52(10) :1136–1140.  
JIA Hai-xia, GUO Hong-yan, YIN Ying, et al. Responses of rice growth to copper stress under free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE)[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2007, 52 (19):2636–2641
- [10] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55 :373–399.
- [11] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under control[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio*, 1998, 49 :249–279.
- [12] 丁燕芬, 程红焱, 宋松泉. 莲种子的极端高温耐性与抗氧化酶活性的变化[J]. 中国科学 C 辑 生命科学, 2008, 38(4) :337–347.  
DING Yan-fen, CHENG Hong-yan, SONG Song-quan. Changes in extreme high-temperature tolerance and activities of antioxidant enzymes of sacred lotus seeds[J]. *Science in China Series C Life Sciences*, 2008, 38 (4) :337–347.
- [13] 张福锁. 环境胁迫与植物营养[M]. 北京 :北京农业大学出版社, 1993 :79–91.  
ZHANG Fu-suo. Environmental stress and plant nutrition[M]. Beijing :Beijing Agricultural University Press, 1993 :79–91.