

## Physiological and Ecological Responses of Rape Seedlings to Strontium Stress\*

Deyu Feng<sup>1</sup>, Qilin Dai<sup>1</sup>, Guangyan Cui<sup>1</sup>, Xianyi Xian<sup>1</sup>, Wenbo Zhou<sup>1</sup>, Jin Wang<sup>1,2#</sup>

<sup>1</sup>School of life science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang

<sup>2</sup>Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing

Email: #wjdsz@vip.sina.com

Received: Oct. 9<sup>th</sup>, 2013; revised: Oct. 30<sup>th</sup>, 2013; accepted: Nov. 3<sup>rd</sup>, 2013

Copyright © 2013 Deyu Feng et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Abstract:** *Ppr1*-transgenic and non-transgenic rape seedlings (*Brassica napus* L.) were treated with different concentrations of Sr<sup>2+</sup> (0, 0.5, 1, 5, 10 mmol/L) for 30 days under quartz sand culture. The Sr<sup>2+</sup> uptake and physiological and ecological characteristics of rape seedlings were investigated. The results showed that the uptake of Sr<sup>2+</sup> in transgenic and non-transgenic rape seedlings increased with the increase of Sr<sup>2+</sup> stress concentration; the content of Sr<sup>2+</sup> in transgenic rape roots was greater than that in non-transgenic, but the content in up-ground parts in transgenic rape was less than that in non-transgenic rape. Contrasted to the CK, the content of Pro increased with the increase of Sr<sup>2+</sup> concentration, but the activity of SOD and POD, and the content of chlorophyll first increased then declined. Under the same treatment, the activity of antioxidant enzymes (SOD and POD) and the content of chlorophyll and Pro in transgenic rape were higher than those in non-transgenic rape. So we conclude that: *Ppr1*-transgenic rape has better ability of resistance and tolerance to strontium-stress.

**Keywords:** *Ppr1*; Rape; Sr<sup>2+</sup>; Physiological and Ecological Response

## 油菜对 Sr 胁迫的生理生态响应\*

冯德玉<sup>1</sup>, 代其林<sup>1</sup>, 崔广艳<sup>1</sup>, 鲜先毅<sup>1</sup>, 周文波<sup>1</sup>, 王 劲<sup>1,2#</sup>

<sup>1</sup>西南科技大学生命科学与工程学院, 绵阳

<sup>2</sup>中国农业科学院生物技术研究所, 北京

Email: #wjdsz@vip.sina.com

收稿日期: 2013 年 10 月 9 日; 修回日期: 2013 年 10 月 30 日; 录用日期: 2013 年 11 月 3 日

**摘 要:** 在砂培条件下, 采用不同浓度的 Sr<sup>2+</sup> (0、0.5、1、5、10 mmol/L) 对转 *ppr1* 基因油菜幼苗 (*Brassica napus* L.) 和非转基因油菜幼苗处理 30 d, 分析油菜幼苗对 Sr 的吸收积累情况, 并研究油菜对 Sr 胁迫的生理生态响应。结果表明: 转基因油菜幼苗和非转基因油菜幼苗对 Sr<sup>2+</sup> 的吸收量均随 Sr<sup>2+</sup> 胁迫浓度的升高而升高, 转基因油菜根部的 Sr<sup>2+</sup> 含量大于非转基因油菜根部, 而地上部分的 Sr<sup>2+</sup> 含量却小于非转基因油菜。与对照相比, 在 Sr<sup>2+</sup> 胁迫下的转基因油菜和非转基因油菜脯氨酸(Pro)含量则随 Sr<sup>2+</sup> 浓度的提高而升高, 而 SOD、POD 活性和叶绿素含量都随 Sr<sup>2+</sup> 浓度的增加呈先上升后下降趋势。与非转基因油菜相比, 转基因油菜在各种胁迫浓度下的 SOD、POD 活性、叶绿素含量以及脯氨酸含量都高于非转基因油菜。因此得出结论: 转 *ppr1* 基因油菜较非转基因油菜更具有对 Sr 胁迫的抗性和耐受能力。

**关键词:** *Ppr1*; 油菜; Sr<sup>2+</sup>; 生理生态响应

\*基金项目: 973 项目(2013CB733903), 863 项目(2012AA063503), 国家转基因专项(2014ZX0801201B), 农业部公益性行业科研专项(2011103007), 四川省教育厅(09ZA034)和西南科技大学博士研究基金(11zx7104)。

#通讯作者。

## 1. 引言

从二战时期的原子弹爆炸到 2011 年的福岛核泄露再到当今核能的大肆应用,放射性污染已经成为全球高度关注的环境问题<sup>[1]</sup>。所谓放射性污染就是指由于人类工业,军事等排放出的放射性物质对环境和人体造成的伤害。由于放射性污染物种类繁多,半衰期长,影响范围广,而且危害时间较长,所以世界各国针对放射性废物的处理与处置,放射性土壤的修复等做了大量的研究工作<sup>[2]</sup>,放射性物质的生物修复已经成为全球热点。

<sup>90</sup>Sr 是分布范围最广的放射性污染物之一,由于其在土壤中迁移率较慢,而半衰期却达 29 年之久,因而成为生物学上最危险的核素之一,<sup>88</sup>Sr 是 <sup>90</sup>Sr 的稳定性同位素,与 <sup>90</sup>Sr 具有相似化学性质,本文以 <sup>88</sup>Sr 代替 <sup>90</sup>Sr 进行研究。目前关于放射性污染的研究主要集中在对锶、铯和铀等放射性物质高富集植物的筛选<sup>[3]</sup>,核素在植物体内的积累分布以及放射性物质对植物光合,抗氧化酶系统<sup>[4,5]</sup>的影响上,而关于转基因油菜和非转基因油菜对核素污染的生理生态响应却鲜有报道。基于此本研究通过室内砂培方式,研究了 Sr 对转 *pprI*-基因和非转基因油菜生理生化的影响以及 Sr 在转基因和非转基因油菜体内的吸收积累、迁移分配规律,探求 Sr 对油菜的伤害机制及油菜的耐性机制,以期土壤核素污染的植物修复及减害栽培提供理论依据。*pprI* 是近年来在耐辐射球菌(*Deinococcus radiodurans*, DR)中发现的一个极其重要的 DNA 修复开关基因,将其导入微生物,植物中均能表达并增强其对盐胁迫等的耐受性<sup>[6]</sup>。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 试验材料

供试植物油菜种子为本实验室栽培保存的转 *pprI* 甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)和非转基因甘蓝型油菜(四川大学提供的波里马细胞质雄性不育恢复系 84100-18)。选取籽粒饱满、大小一致的种子,于 2012 年 10 月用石英砂和 Hoaglands 营养液在室内进行盆栽培养。培养条件为:14 h 光照,日/夜温度为 26℃/20℃,湿度为 85%。选用粒径为 0.8 mm 的石英砂为发芽床,沙子经 130℃ 下烘 3~4 小时杀死病原物放凉后备用。

盆高 25 cm,直径为 30 cm,每盆中放 10 kg 石英砂。实验设置 5 个不同浓度的 Sr<sup>2+</sup>处理,分别为 0、0.5、1、5、10 mmol/L,每个处理浓度设置 6 盆重复,每盆保留植株 5 株。在 4 叶期时通过营养液添加不同浓度的 Sr<sup>2+</sup>处理,之后每隔三天补充营养液,保持持水量的 60%~80%。30 天后,分别采样进行各指标的测定,每个处理测定三次。

### 2.2. 指标的测定与方法

#### 2.2.1. 生理生化指标的测定

SOD 活性测定采用氮蓝四唑法<sup>[7]</sup>;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法<sup>[7]</sup>;叶绿素含量的测定采用 95%乙醇比色法<sup>[8]</sup>;游离脯氨酸含量的测定采用酸性茚三酮显色法<sup>[7]</sup>。

#### 2.2.2. <sup>88</sup>Sr 含量的测定

取处理过的整株植物用去离子水洗净,沥干水分,将植株的根和地上部分分开,于 105℃ 下杀青 30 min,然后在 85℃ 下于烘箱中烘至恒重。烘干后的样品,分别称重,研磨,采用 HNO<sub>3</sub> 和 HClO<sub>4</sub> 法消化(二者体积比为 3:1)、火焰原子吸收光谱法对植物根、地上部中 <sup>88</sup>Sr 含量分别进行测定,各样品 3 次重复<sup>[9]</sup>。

### 2.3. 数据处理

数据分析采用 DPSv7.05 软件(中国)和 Origin 8.0 作图软件(美国, Microcal)。

## 3. 结果与分析

### 3.1. <sup>88</sup>Sr 在油菜幼苗体内的积累分布

由表 1 可以看出,在 <sup>88</sup>Sr 的胁迫下,转基因油菜和非转基因油菜幼苗地上部分和根系中的 <sup>88</sup>Sr 含量均随处理浓度的增加而逐渐提高,根系部分 <sup>88</sup>Sr 的含量始终比地上部分高,说明油菜幼苗根系吸收的 <sup>88</sup>Sr 大部分保留于根部。与非转基因相比,转基因油菜根系的 <sup>88</sup>Sr 含量更高,地上部分 <sup>88</sup>Sr 含量较少。

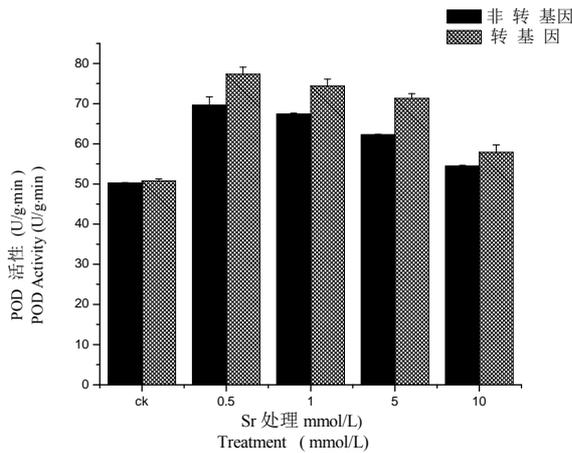
### 3.2. <sup>88</sup>Sr 胁迫对油菜 POD 活性的影响

由图 1 可以看出,在没有 <sup>88</sup>Sr 胁迫时,转基因油菜和非转基因油菜的 POD 活性基本保持稳定,随着胁迫浓度的增加,POD 活性先迅速上升后又逐渐下降,至最高胁迫浓度时(10 mmol/L),POD 活性仍然高

**Table 1. The uptake and distribution of <sup>88</sup>Sr in rape seedlings**  
**表 1. 油菜幼苗对 <sup>88</sup>Sr 的吸收和分布**

<sup>88</sup> Sr 处理浓度 mmol/kg Concentration of treatments	非转基因 Non-transgenic		转基因 Transgenic	
	地上部分含量	根系含量	地上部分含量	根系含量
	Concentrations of	Concentrations of	Concentrations of	Concentrations of
	above-ground (mg·g <sup>-1</sup> )	Roots (mg·g <sup>-1</sup> )	above-ground (mg·g <sup>-1</sup> )	Roots (mg·g <sup>-1</sup> )
0.5	4.11 ± 0.86dC	4.85 ± 0.16 dD	3.25 ± 0.26 cC	5.70 ± 0.45dC
1	5.84 ± 0.35cC	8.19 ± 0.24cC	4.44 ± 0.32cC	9.32 ± 0.34cC
5	11.40 ± 0.71bB	16.99 ± 0.57bB	10.69 ± 0.57bB	17.96 ± 0.91bB
10	19.09 ± 0.67aA	21.46 ± 0.64aA	16.37 ± 3.83aA	24.25 ± 2.45aA

注：不同字母代表 Duncan's 显著性检验，小写字母表示差异显著(p < 0.05)，大写字母表示差异极显著(p < 0.01)。  
 Note: Different letters indicate significant difference by Duncan's test, small letters indicate significant difference at 5% levels, big letters indicate highly significant difference at 1% levels.

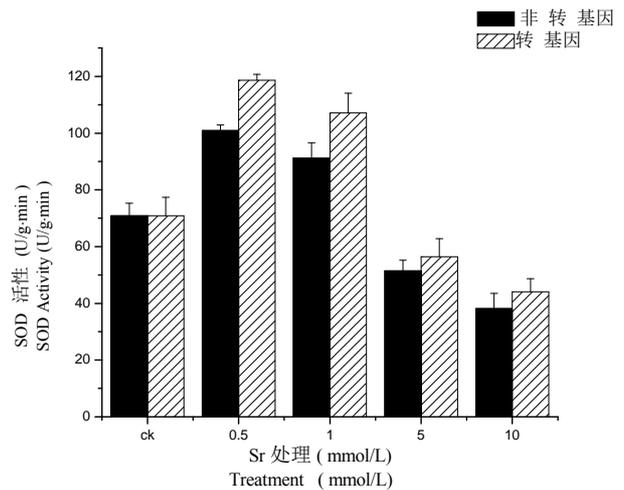


**Figure 1. The effects of <sup>88</sup>Sr stress on the activity of POD in rape seedlings**  
**图 1. <sup>88</sup>Sr 处理对油菜 POD 活性的影响**

于对照。POD 活性在胁迫浓度为 0.5 mmol/L 的时候达到最大值，各胁迫浓度下 POD 值始终维持在较对照组高的水平上。转基因油菜在 0.5、1、5、10 mmol/L 胁迫浓度下的 POD 活性都略大于非转基因，在 5 mmol/L 时差异最大，达到了显著水平。

### 3.3. <sup>88</sup>Sr 胁迫对油菜 SOD 活性的影响

图 2 显示出了在 <sup>88</sup>Sr 胁迫下 SOD 的变化趋势。转基因油菜和非转基因油菜的 SOD 活性随着胁迫浓度的增加呈现先上升后下降的趋势，在 0.5 mmol/L 时达到最大值，10 mmol/L 时达到最小值。SOD 活性在 5 mmol/L 和 10 mmol/L 胁迫浓度处理时，比对照组更低。转基因油菜和非转基因油菜相比，除对照组 SOD 活性和非转基因基本一致外，其余各处理组均高于非



**Figure 2. The effects of <sup>88</sup>Sr stress on the activity of SOD in rape seedlings**  
**图 2. <sup>88</sup>Sr 处理对油菜 SOD 活性的影响**

转基因油菜。这表明转基因油菜比非转基因油菜清除活性氧自由基的能力更强。

### 3.4. <sup>88</sup>Sr 胁迫对油菜叶绿素含量的影响

从图 3 我们可以看出，随胁迫浓度的增加，转基因油菜和非转基因油菜的叶绿素含量也是先上升后下降的趋势，低浓度处理时，叶绿素的含量不断升高，从 1 mmol/L 时开始下降，到 10 mmol/L 仍然比对照组含量高。在没有施加 <sup>88</sup>Sr 胁迫时，非转基因油菜和转基因油菜叶绿素含量差异不显著(p > 0.05)，在 0.5、1、5、10 mmol/L 处理时，转基因油菜的叶绿素含量都高于非转基因油菜，除 10 mmol/L 处理外，其余差异都达到了极显著水平。

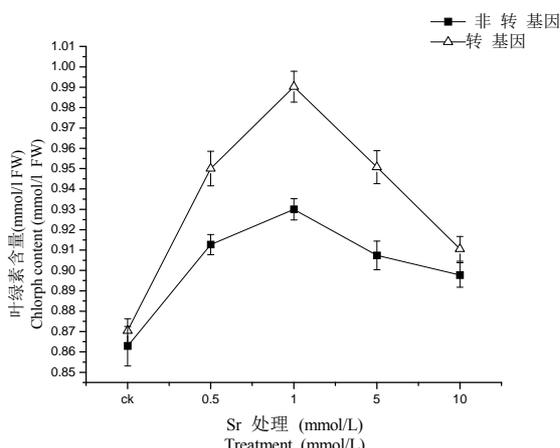


Figure 3. The effects of <sup>88</sup>Sr stress on the chlorophyll in rape seedlings

图 3. <sup>88</sup>Sr 处理对油菜叶绿素含量的影响

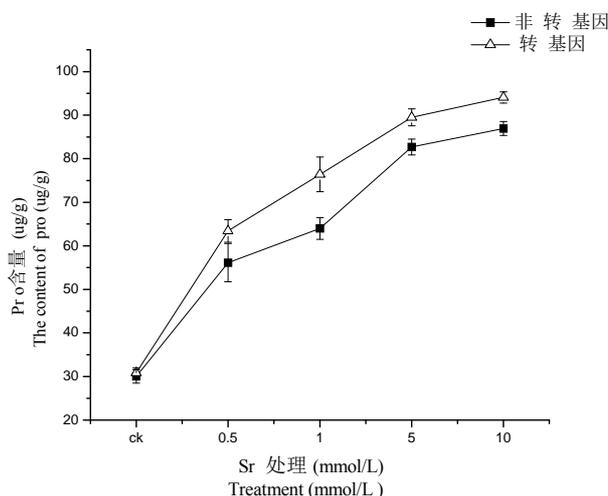


Figure 4. The effects of <sup>88</sup>Sr stress on the pro in rape seedlings

图 4. <sup>88</sup>Sr 处理对油菜脯氨酸含量的影响

### 3.5. <sup>88</sup>Sr 胁迫对油菜游离脯氨酸含量的影响

从图 4 的动态变化可知,随着 <sup>88</sup>Sr 胁迫浓度的增加,脯氨酸呈现不断升高的趋势,在 10 mmol/L 胁迫浓度时,转基因油菜和非转基因油菜的脯氨酸含量分别是对照的 3.14 倍和 2.9 倍。未受胁迫伤害时,转基因与非转基因体内脯氨酸都维持在一个稳定的状态,且含量相当,但当两者同时受到胁迫时,脯氨酸急剧升高,0.5 mmol/L 时升高的幅度最大,转基因增幅达到 105.41%,非转基因达到 86.98%。转基因油菜脯氨酸在四种处理浓度下的积累量始终高于非转基因油菜的。

## 4. 讨论

近来已有许多关于 Sr 对植物生长影响报道,这些研究表明,低浓度的 Sr 促进植物生长,而高浓度的 Sr 则抑制生长<sup>[4,10]</sup>。本研究通过对 Sr 胁迫处理下的转基因油菜和非转基因油菜生理生化指标的测定,发现转 *ppr1* 基因油菜比非转基因油菜更具有对 Sr 污染的抗性。

本研究中,随着胁迫浓度的升高,转基因油菜幼苗和非转基因油菜幼苗吸收 Sr<sup>2+</sup> 的含量都不断增高,根系 Sr<sup>2+</sup> 含量高于地上部分茎叶中的含量,说明根系为油菜主要富集 <sup>88</sup>Sr 的器官。在非转基因油菜中,5 mmol/L 处理时,根系 <sup>88</sup>Sr 含量和地上部分 <sup>88</sup>Sr 含量之比最大,根系是地上部分的 1.4 倍,而转基因则是 1 mmol/L 处理时,根系含量与地上部分含量之比最

大,根系是地上部分的 2.1 倍。同时我们研究还发现转基因油菜根系 Sr<sup>2+</sup> 含量比非转基因油菜高,而其地上部分却比非转基因的低,这可能是因为油菜对 Sr<sup>2+</sup> 主要是胞外吸附,而植物根系的 Sr<sup>2+</sup> 载体数量是有限的,随着吸收量的增加 Sr<sup>2+</sup> 载体达到饱和<sup>[4]</sup>,而转基因油菜根系 Sr<sup>2+</sup> 载体数量高于非转基因油菜,所以转基因根系 Sr<sup>2+</sup> 含量更高。也可能是由于随着 Sr<sup>2+</sup> 胁迫浓度的增高,对细胞的毒害也相应提高,从而影响了根系的吸附能力<sup>[11]</sup>,转基因油菜受到的毒害更小,所以根系吸附的含量更多,或是这两方面共同作用的结果,具体的原因尚待进一步研究。

植物在受到胁迫时常常产生各种氧自由基,这些活性分子对脂类、核酸和蛋白质都有很强的破坏作用。在重金属的诱导下,一些植物能激活体内的防御系统,清除由于重金属胁迫而产生的自由基和过氧化物,防止膜脂过氧化<sup>[12]</sup>,而作为活性氧清除系统的主要酶类, SOD 和 POD 在其中发挥了重要的功能。在低浓度下胁迫下, SOD 和 POD 受到轻微刺激,从而使其活性增高,它们能维持植物体内活性氧自由基的平衡,防止植物细胞受到伤害,但是当植物受到高浓度的胁迫时,其毒害加重,细胞膜破坏较严重时, SOD 和 POD 酶自身结构也会受到伤害而使其清除自由基的能力减弱,所以活性开始下降。本研究中转基因油菜受到胁迫伤害以后, SOD 和 POD 活性始终高于非转基因油菜, <sup>88</sup>Sr 胁迫浓度为 0.5 mmol/L, POD 活性达到最大值,这表明在 0.5 mmol/L <sup>88</sup>Sr 有利于促进 POD 酶活性的提高。这可能是因为非转基因油菜苗对

Sr 胁迫更加敏感, 而转基因油菜对 Sr 胁迫有更高的耐受力。表明转基因油菜比非转基因油菜有更强的抵御  $^{88}\text{Sr}$  诱导的氧化胁迫的能力。

光合作用是植物生长发育的主要动力, 叶绿素是光合作用的基础, 影响作物生理活动的各种因素都会影响到光合过程, 而叶绿素含量的变化则直接影响植物的光合作用<sup>[13]</sup>。重金属对光合作用的抑制是由对光合器官结构的毒害和细胞内的有关叶绿素合成的酶系统的影响造成的<sup>[14]</sup>。很多研究已经证明, 微量的重金属毒害可提高作物叶片叶绿素含量, 而高浓度胁迫则会使叶绿素含量下降<sup>[15,16]</sup>, 本研究与前人的研究结果一致。在低浓度 Sr 胁迫下, 非转基因油菜和转基因油菜叶绿素含量都升高, 这可能是由于少量的  $\text{Sr}^{2+}$  弥补了光合系统的  $\text{Ca}^{2+}$  而对光合系统产生了影响所致, 而高浓度  $^{88}\text{Sr}$  胁迫下, 叶绿素的急剧减少, 这可能是因为两方面的原因造成的: 一是高浓度  $^{88}\text{Sr}$  使油菜幼苗的细胞膜透性发生了变化, 大量的  $^{88}\text{Sr}$  进入了细胞, 从而使叶绿体结构和功能遭到了破坏, 导致叶绿素快速分解; 二是高浓度  $^{88}\text{Sr}$  毒害能使油菜幼苗吸收的元素减少, 阻碍叶绿素形成, 最终导致叶绿素含量下降。转基因油菜叶绿素含量在各种胁迫浓度下都高于非转基因油菜, 可能是由于转基因油菜叶片中  $^{88}\text{Sr}$  的含量较小, 或者转基因油菜叶绿素合成功能更强的原因。

脯氨酸作为渗透调节物质, 在植物受到逆境胁迫时, 表现出显著的积累量, 以提高植物对逆境的抗性和适应能力。脯氨酸在植物和微生物修正环境胁迫机制中发挥重要作用<sup>[17]</sup>。大多数植物在重金属离子胁迫下, 能在体内大量积累渗透调节物质脯氨酸以提高植物对重金属的抗性和耐受性<sup>[17,18]</sup>。本研究中, 转基因和非转基因油菜在  $^{88}\text{Sr}$  胁迫下, 脯氨酸含量都不断提高, 其含量的提高可以防止细胞质酸化, 维持 NADPH/NADP<sup>+</sup> 的比值平衡<sup>[19]</sup>, 维持酶的稳定性, 防止质膜损伤, 保护核糖体的功能等。转基因油菜苗中脯氨酸的积累比非转基因苗的高, 说明转基因油菜对  $^{88}\text{Sr}$  胁迫的抗性更强, 这可能是由于 *pprI* 基因诱导了一些脯氨酸合成酶的关键基因所致。

综上所述, 在一定浓度的  $^{88}\text{Sr}$  胁迫下, 转基因油

菜和非转基因油菜都可以通过调节其根系吸收, POD、SOD 活性, 叶绿素以及脯氨酸含量来应对伤害, 但是转 *pprI* 基因的油菜与非转基因油菜相比, 更具有对  $^{88}\text{Sr}$  胁迫的抗性, 本研究结果对进一步揭示  $^{88}\text{Sr}$  对植物生长的影响及指导土壤核素污染的植物修复治理具有重要的意义。

## 参考文献 (References)

- [1] 孔昌俊, 杨凤林 (2004) 环境科学与工程概论. 科学出版社, 北京, 246-247.
- [2] 吴文广 (2010) 环境放射性污染的危害与防治. *广东化工*, **37**, 194-195.
- [3] 唐永金, 罗学刚, 曾峰, 等 (2013) 不同植物对高浓度 Sr、Cs 胁迫的响应与修复植物筛选. *农业环境科学学报*, **32**, 960-965.
- [4] 敖嘉, 唐运来, 陈梅, 等 (2010) Sr 胁迫对油菜幼苗抗氧化指标影响的研究. *核农学报*, **24**, 166-170.
- [5] 周璐璐, 唐运来, 陈霞, 等 (2013) 镉对油菜幼苗叶片光合作用的影响. *植物学报*, **48**, 313-319.
- [6] Pan, J., Wang, J., Zhou, Z.F., et al. (2009) IrrE, a global regulator of extreme radiation resistance in *Deinococcus radiodurans*, enhances salt tolerance in *Escherichia coli* and *Brassica napus*. *PLoS ONE*, **4**, e4422.
- [7] 李合生, 孙群, 赵世杰 (2000) 植物生理生化实验原理和技术. 高等教育出版社, 北京, 164-165.
- [8] 王学奎 (2006) 植物生理生化实验原理和技术. 高等教育出版社, 北京, 134-136.
- [9] 张晓雪 (2010) 绿肥和花卉对  $^{137}\text{Cs}$  和  $^{88}\text{Sr}$  污染土壤的修复能力研究. 西南科技大学, 绵阳.
- [10] Choi, Y.H., Kang, H.-S., Jun, I., et al. (2007) Transfer of  $^{90}\text{Sr}$  to rice plants after its acute deposition onto flooded paddy soils. *Journal of Environmental Radioactivity*, **93**, 157-169.
- [11] 李梅, 谢玺韬, 刘志礼 (2004) 镉胁迫下亚心形扁藻生理生化的研究. *南京医科大学学报(自然科学版)*, **24**, 459-463.
- [12] 刘华琳 (2008) 玉米对砷污染的生理生态响应. 山东农业大学, 泰安.
- [13] 杨居荣, 贺建群, 蒋婉茹 (1995) Cd 污染对植物生理生化的影响. *农业环境保护*, **14**, 193-197.
- [14] 陈平, 余土元, 陈惠阳, 等 (2002) 硒对镉胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响. *广西植物*, **22**, 277-282.
- [15] 杨文婕, 刘更另 (1997) 砷对植物衰老的影响. *植物生理学通讯*, **33**, 54-55.
- [16] 储玲, 刘登义, 王友保, 等 (2004) 铜污染对三叶草幼苗生长及活性氧代谢影响的研究. *应用生态学报*, **15**, 119-122.
- [17] 李翠 (2009) 重金属离子诱导植物脯氨酸积累机制及生理意义. *德宏师范高等专科学校学报*, **18**, 103-105.
- [18] 支立峰, 余涛, 朱英国, 等 (2006) 过量表达脯氨酸的转基因烟草细胞对毒性重金属的抗性增强. *湖北师范学院学报(自然科学版)*, **2**, 14-19.
- [19] Hare, P.D. and Cress, W.A. (1997) Metabolism implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, **21**, 79-102.