

刘泽伟, 赖金龙, 李俊柯, 等. 铀对蚕豆幼苗光合特性和呼吸代谢的毒害机理[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 1916–1924.

LIU Ze-wei, LAI Jin-long, LI Jun-ke, et al. Toxic mechanism of uranium on photosynthetic characteristics and respiratory metabolism of *Vicia faba* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(9): 1916–1924.



开放科学 OSID

铀对蚕豆幼苗光合特性和呼吸代谢的毒害机理

刘泽伟^{1,3}, 赖金龙^{2,3}, 李俊柯^{1,3}, 丁峰^{1,3}, 张宇^{1,3*}, 罗学刚^{1,3}

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 西南科技大学环境与资源学院, 四川 绵阳 621010; 3. 西南科技大学生物质材料教育部工程研究中心, 四川 绵阳 621010)

摘要: 为探究铀(U)胁迫对植物光合作用和呼吸代谢的毒害作用, 采用溶液培养法, 用含有不同浓度铀(0、5、10、15、20、25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的溶液处理蚕豆幼苗72 h后, 通过组织切片和透射电镜观察根系结构的变化, 并测定蚕豆幼苗的叶绿素含量、光合参数以及根系活力, 另取高浓度铀处理组(U-25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)与对照组(U-0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的根系进行转录组测序(RNA-seq)。结果表明: 在不同浓度的铀胁迫下, 铀向地上部的转移极少, 其转移系数小于0.01, 过量的铀累积明显破坏了根系的结构。此外, 铀胁迫下蚕豆幼苗的光合效率降低, 但根系活力增加。RNA-seq结果表明, 与光合作用和呼吸代谢调控相关的基因中, 共有117个基因差异表达, 其中, 光合作用中与光反应途径、卡尔文循环途径及光呼吸途径相关的基因表达以下调为主(90个DEGs; 3个上调, 87个下调); 呼吸代谢中参与线粒体电子传递过程的相关基因表达以上调为主(27个DEGs; 23个上调, 4个下调)。研究表明, 高浓度的铀胁迫抑制了蚕豆幼苗的光合作用, 但增强了其根系的呼吸代谢, 这可能是蚕豆对铀毒害的一种适应机制。

关键词: 铀(U); 光合作用; 呼吸代谢; 转录组; 蚕豆

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2020)09-1916-09 **doi:** 10.11654/jaes.2020-0390

Toxic mechanism of uranium on photosynthetic characteristics and respiratory metabolism of *Vicia faba* L.

LIU Ze-wei^{1,3}, LAI Jin-long^{2,3}, LI Jun-ke^{1,3}, DING Feng^{1,3}, ZHANG Yu^{1,3*}, LUO Xue-gang^{1,3}

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 2. College of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 3. Engineering Research Center of Biomass Materials, Ministry of Education, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

Abstract: This study aims to explore the toxicity of uranium (U) stress on photosynthesis and respiratory metabolism in plants. In this experiment, seedlings of *Vicia faba* L. were treated with different concentrations of U (0, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 72 h. Physiological and biochemical analyses were conducted, and the roots of the high-concentration U treatment group and the control group were selected using RNA-seq. The results showed that under different concentrations of U stress, U rarely transferred to the aboveground part of the plant, its transfer coefficient was less than 0.01, and the excess U accumulation clearly damaged the root structure. In addition, the leaf photosynthetic efficiency of *Vicia faba* L. decreased, but the root activity increased under U stress. These processes are regulated by related genes. The results of transcriptome sequencing showed that there were 117 differentially expressed genes (DEGs) involved in photosynthesis and respiratory metabolism. The expression of photosynthesis-related genes was mainly down-regulated (90 DEGs, 3 up and 87 down), while that of respiratory metabolism-related genes was mainly up-regulated (27 DEGs; 23 up and 4 down). Therefore, this research shows that the photosynthesis of *Vicia faba* L. is inhibited and the respiration is enhanced under high-concentration U treatment.

Keywords: uranium (U); photosynthesis; respiratory metabolism; transcriptome; *Vicia faba* L.

收稿日期: 2020-04-07 录用日期: 2020-05-27

作者简介: 刘泽伟(1996—), 男, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 主要从事环境污染生物效应与生物修复研究。E-mail: 2501731662@qq.com

*通信作者: 张宇 E-mail: zhangyu@swust.edu.cn

基金项目: 国民核生化灾害防护国家重点实验室公开基金项目(SKLNBC2019-21)

Project supported: The National Key Laboratory of National Nuclear and Biochemical Disaster Protection Open Fund Project(SKLNBC2019-21)

核电及国防军工对核燃料的需求推动铀矿冶快速发展^[1],铀矿冶产生的大量铀废石、铀尾矿中残存的放射性核素及伴生重金属被释放进入环境,对环境造成严重的放射性及重金属双重污染。铀是典型的重金属污染元素,具有半衰期长、辐射强度大、衰变子体多等特点,其毒性效应包括辐射毒性和化学毒性双重效应^[2-3]。铀在自然界中主要以化合物形式存在,其可溶态易被生物吸收,并沿着食物链进入人体,对人体造成内辐射,严重危害人体健康^[4]。因此,铀矿冶周边环境铀污染的修复与治理已成为亟需解决的问题。

近年来,利用植物根系对铀的提取和固定来修复铀污染的土壤或水体,已受到国内外学者的广泛关注^[5-6]。然而,铀作为一种非必需、难转移元素,极易附着、累积在植物根部^[7-8],其在植物根部的过量累积,已对植物造成明显的毒害作用,如植物生长缓慢、根系坏死^[9],这也严重影响了植物对铀污染的修复效率。因此,研究铀对植物的毒害机理有助于了解植物对铀的耐受性及修复植物的筛选,对利用植物修复铀污染具有重要意义。

蚕豆等豆科植物除了根系能够吸收重金属外,还能改善土壤环境,具有修复土壤重金属污染的潜力^[10-11]。据研究报道蚕豆可作为研究重金属对植物毒害作用的一种模式植物^[12]。光合作用和呼吸代谢是植物生长发育过程中两个重要的生理代谢过程,受到重金属胁迫的影响^[13-17]。已有研究表明,Cd、Pb等重金属胁迫对植物的光合作用会造成一定的影响^[13,18]。例如,赵鲁雪等^[8]研究发现铀胁迫下四季豆的净光合速率下降,而大叶菠菜、红圆叶苋的净光合速率上升,说明不同植物对铀胁迫的适应能力存在差异。另外,有研究表明重金属胁迫会影响植物根系的呼吸代谢过程^[16,19-20]。例如,吴恒梅等^[15]研究发现丝瓜种子的根系活力在低浓度镉胁迫下有所增强,而在高浓度镉胁迫下会被抑制。尽管已有报道显示重金属胁迫会影响植物的正常生理代谢过程,但关于铀对植物光合作用及呼吸代谢影响的分子机理鲜有报道。

随着转录组测序技术的发展,利用该技术从分子水平上分析植物逆境胁迫下的毒害机理或耐受机制方面的研究备受关注^[21-22]。因此,本文采用转录组测序技术分析高浓度铀胁迫下蚕豆幼苗光合作用和呼吸代谢相关基因的差异表达,并结合一些生理生化分析,以系统地阐释铀对蚕豆的毒害机理,对了解蚕豆对铀的耐受性和修复植物的筛选具有参考意义。

1 材料与方法

1.1 植物培养与处理

本实验以蚕豆为研究对象,种子购于绵阳丰益河种子有限公司。随机挑选饱满、种皮未破损的蚕豆种子用蒸馏水冲洗3次后,浸种24 h。将种子置于人工培养气候箱(温度25℃,湿度80%)中进行发芽。挑选长势一致(胚根长度约2 cm)的发芽种子移植到定植篮中(每个定植篮放3粒种子),再将定植篮放置在含有改良霍格兰营养液的植物组织培养瓶中。每3 d更换1次营养液,直至蚕豆长出两片真叶。改良霍格兰营养液组成如下:101.1 mg·L⁻¹ KNO₃、236.15 mg·L⁻¹ Ca(NO₃)₂·4H₂O、98.59 mg·L⁻¹ MgSO₄·7H₂O、16.01 mg·L⁻¹ NH₄NO₃、13.61 mg·L⁻¹ KH₂PO₄、铁盐溶液(1.345 mg·L⁻¹ Na₂-EDTA 和 1.112 mg·L⁻¹ FeSO₄·7H₂O),以及微量元素(包含:0.569 mg·L⁻¹ H₃BO₃、0.356 mg·L⁻¹ MnCl₂·4H₂O、0.043 mg·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O、0.01 mg·L⁻¹ CuSO₄·5H₂O 和 0.018 mg·L⁻¹ H₂MoO₄·H₂O),pH 为5.5。植物生长条件为:白天25℃/黑夜18℃,白天12 h/黑夜12 h,光照强度为5500 lx。

以硝酸铀酰[²³⁸U, UO₂(NO₃)₂·6H₂O,分析纯试剂]为铀源,设计铀污染浓度为0(对照)、5、10、15、20、25 μmol·L⁻¹,每组重复3次。本实验采用不含磷的改良霍格兰营养液制备不同浓度的铀溶液,以避免营养液中的磷酸盐与铀酰离子形成不溶性沉淀。随机选择生长状况基本一致的蚕豆幼苗(长至两片真叶阶段),用不同浓度的铀溶液代替营养液,在与植物培养相同的条件下处理72 h。同时,每日在叶片上喷施1次磷溶液(0.1 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄),以避免幼苗缺磷的症状。铀处理72 h后,用蒸馏水冲洗幼苗根系3次,用滤纸吸干多余水分,液氮冷冻,-80℃保存,备用。

1.2 实验方法

1.2.1 根系组织切片及透射电镜观察

观察铀处理后的蚕豆幼苗的生长状况并进行拍照。选取对照组和高浓度铀处理组(25 μmol·L⁻¹)的幼苗根系,根据Brooks等^[23]的方法,制备主根和侧根的石蜡切片(纵切,厚度3~4 μm,番红固绿染色法),用普通光学显微镜分析根系的微观结构。选取对照组和高浓度铀处理组的幼苗根系,将样本用电镜固定液处理后,经树脂包埋-超薄切片-负染等步骤后,制备超薄切片(厚度50~60 nm),用日立120 kV HT7800透射电子显微镜[天美(中国)科学仪器有限公司]观察铀对根系超微结构的影响。

1.2.2 各部分生物量及铀含量的测定

样品先 105 ℃ 杀青 15 min, 然后 85 ℃ 烘干至恒质量。测定各处理组 (0、5、10、15、20、25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 蚕豆幼苗地上部和地下部的生物量。用微型植物粉碎机 (上海科恒) 将样品粉碎, 每个样品取 0.100 0 g 置于消解罐内, 加入 8 mL 浓硝酸和 2 mL 30% 过氧化氢, 用微波消解仪 (意大利 Milestone 公司) 对植物样品进行消解, 采用电感耦合等离子体质谱仪 Agilent 7700x ICP-MS (美国安捷伦公司) 测定铀含量。

1.2.3 叶绿素含量及光合参数的测定

叶绿素含量测定采用乙醇-丙酮 (3:1, V/V) 提取法, 称取 0.100 0 g 植物叶片, 加入 5 mL 色素提取液, 快速研磨后浸提 5 h, 再用紫外分光光度计测定波长在 645 nm 和 663 nm 下的吸光值, 根据相关公式计算叶绿素含量^[24]。用 LCpro-SD+ 全自动便携式光合仪 (北京澳作生态仪器有限公司) 测定蚕豆幼苗的光合参数, 包括: 净光合速率 (A , $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、气孔导度 (G_s , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、胞间 CO_2 浓度 (C_i , $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) 和蒸腾速率 (E , $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 每个处理至少测定 9 次。

1.2.4 根系活力的测定

采用 2, 3, 5-三苯基氯化四氮唑 (TTC) 比色法测定经不同浓度铀 (0、5、10、15、20、25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理后幼苗的根系活力。称取 0.500 0 g 根, 加入 4 g $\cdot\text{L}^{-1}$ TTC 溶液和 0.66 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液各 5 mL, 在 37 ℃ 下暗保温 2 h, 加入 1 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸 2 mL 终止反应, 取出根系吸干表面水分后, 加入乙酸乙酯充分研磨, 定容至 10 mL, 分光光度计测定波长 485 nm 下的吸光值, 再根据标准曲线, 求得 TTC 还原量。

1.3 铀胁迫下蚕豆的转录组分析

选取铀处理 (0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 72 h 后的根系样品进行转录组测序, 进行 3 次独立的生物学重复。建库测序及数据分析部分委托上海欧易生物医

学科技有限公司完成, 将得到的 Unigene.fa 文件上传到 Mercator 注释网站 (<https://www.plabipd.de/portal/mercator-sequence-annotation>) 以获得蚕豆的 Mapping 文件。采用 MapMan 软件 (Version 3.6.0RC1) 对与光合作用和线粒体电子传递途径相关的差异表达基因进行可视化分析^[25]。差异表达基因 (DEGs) 的筛选条件是基因表达量差异倍数大于 1.5, 即 $|\log_2 FC| > 1.5$, 且 P 小于 0.05。

1.4 数据处理与分析

铀的转移系数按下列公式计算:

铀的转移系数 (TF) = 植物地上部铀含量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DW) / 植物地下部铀含量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DW)

式中: DW 表示植物干质量。

采用 SPSS v.20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 软件对数据进行单因素方差分析和 LSD 多重比较。采用 Origin 9.0 (Origin Lab. Corporation, Northampton, MA, USA) 作图; 采用 Adobe Illustrator CS6 进行图像排版。

2 结果与分析

2.1 蚕豆幼苗各部分生物量、铀含量及铀转移系数

如表 1 所示, 铀胁迫 72 h 后, 随着铀处理浓度的增加, 蚕豆幼苗地上部和地下部生物量呈降低的趋势。当铀浓度为 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 与对照组比较, 地上部和地下部生物量分别降低了 11.63% 和 9.09%。当铀浓度为 5~25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 地上部和地下部铀累积量分别为 0.06~0.24 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 766.28~5 309.82 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。在不同浓度的铀胁迫下, 铀的转移系数均小于 0.01。结果表明, 铀的主要蓄积器官是根系, 且难以易位至地上部。

2.2 蚕豆幼苗根系组织切片及透射电镜观察

如图 1A 和图 1B 所示, 与对照组相比, U-25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的蚕豆幼苗根系出现了黑化现象。如图

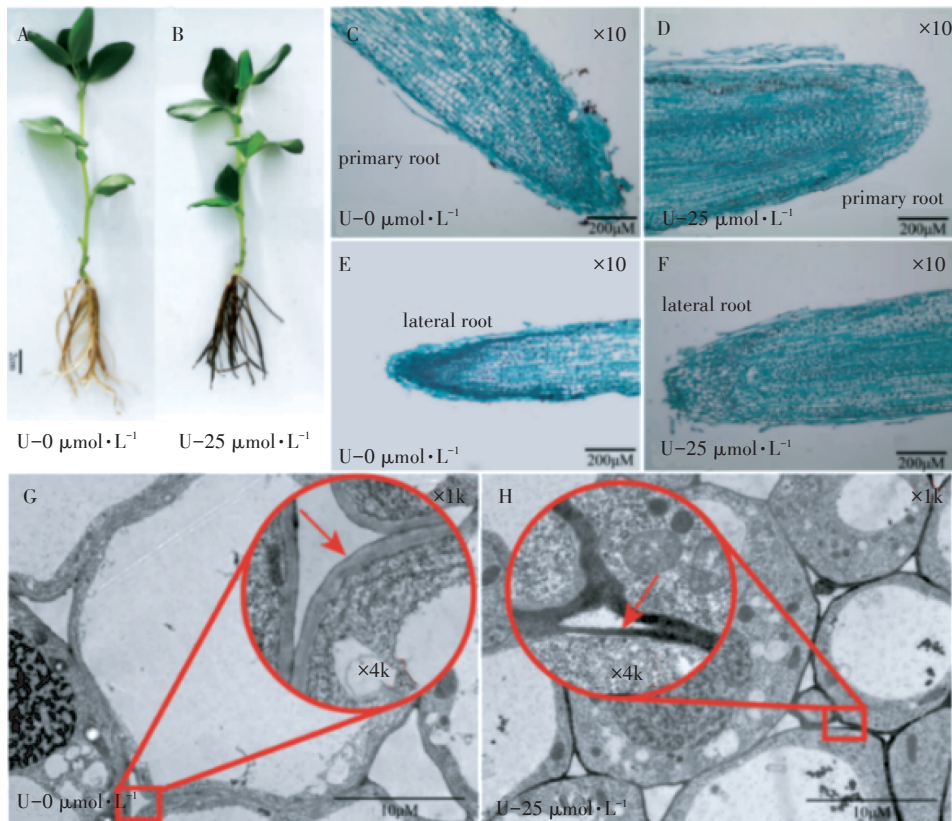
表 1 铀对蚕豆各部分生物量和铀含量的影响

Table 1 Effects of U on the growth of *Vicia faba* L. and its accumulation content in plant

铀浓度 U concentration/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	生物量 Biomass/g		铀含量 U accumulation/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DW)		转移系数 Transfer factor
	地上部 Shoots	地下部 Roots	地上部 Shoots	地下部 Roots	
0(对照)	0.43±0.05	0.22±0.02	0.13±0.01	13.99±1.20	—
5	0.41±0.04	0.21±0.02	0.06±0.01	766.28±104.20	<0.01
10	0.42±0.02	0.21±0.01	0.10±0.01	1 747.64±357.13*	<0.01
15	0.46±0.02	0.21±0.01	0.14±0.04	3 446.92±927.62*	<0.01
20	0.39±0.05	0.20±0.01	0.16±0.05	4 264.24±644.92*	<0.01
25	0.38±0.03	0.20±0.01	0.24±0.09*	5 309.82±983.91*	<0.01

注: 同列中*表示处理组与对照组之间存在显著差异 ($P < 0.05$, $n=3$)。下同。

Note: In the same column, *it means that the value in the uranium treatment group is significantly different than that in the control group ($P < 0.05$, $n=3$). The same below.



A、B为蚕豆幼苗根尖形态,C~F为根尖石蜡切片,G、H为透射电镜下1 000倍观察到的根细胞的超微结构,红色圆圈内的图像为4 000倍观察到的根系超微结构,箭头指向的是细胞壁
A, B refers to the root tip morphology of *Vicia faba* L. seedlings. C to F refers to the paraffin section of the root tip. G, H refers to the ultrastructure of root cells at 1 000-fold and the image in the red circle represents the ultrastructure of plants observed at 4 000-fold of TEM. The arrow refers to the cell wall

图1 铈胁迫对蚕豆幼苗生长及微观结构的影响

Figure 1 Effects of U stress on the growth and microstructure of *Vicia faba* L. seedlings

1C至图1F所示,铈毒害明显损伤了蚕豆根系的根冠层,表现为铈处理组蚕豆根系的主根和侧根的主根冠层完全脱落。如图1G和图1H所示,铈胁迫后的根系细胞壁区域出现明显的铈盐沉积位点。这些结果表明,根系细胞壁是铈的主要分布位点,过量蓄积铈明显损伤了根系结构。

2.3 铈胁迫下蚕豆幼苗的叶绿素含量及光合参数

如表2所示,铈胁迫72 h后,5~25 μmol·L⁻¹组与对照组比较,叶绿素a、b和总叶绿素含量分别降低了4.32%~11.02%、3.9%~7.34%和4.21%~9.84%。随着铈处理浓度的增加,蚕豆幼苗光合作用参数(光合速率、气孔导度和蒸腾速率)均显著降低,但对叶片胞间CO₂浓度的影响不明显。当铈浓度为25 μmol·L⁻¹时,与对照组比较,光合速率、气孔导度和蒸腾速率分别降低了47.99%、38.66%和28.91%(图2)。结果表明,高浓度铈胁迫条件下,根系累积过量铈,诱发植物光合作用异常。

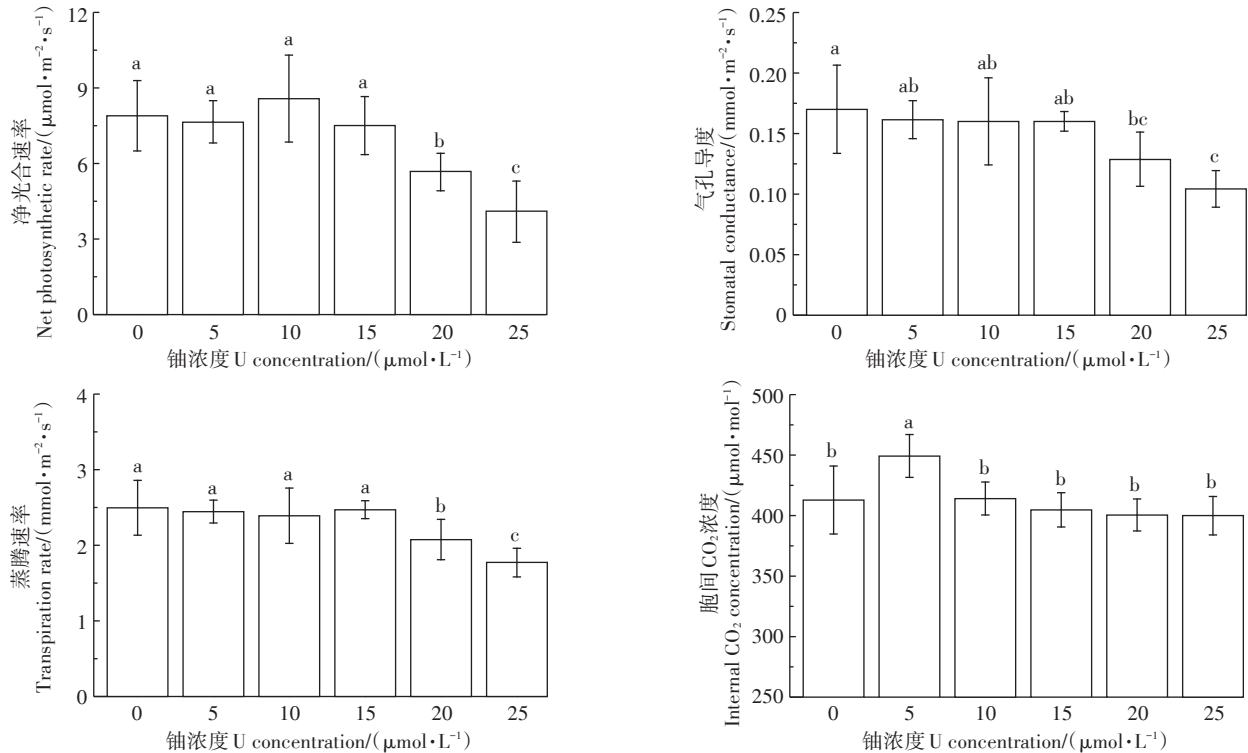
表2 铈胁迫对蚕豆幼苗叶绿素含量的影响(mg·g⁻¹)

Table 2 Effects of U stress on chlorophyll content of *Vicia faba* L.(mg·g⁻¹)

铈浓度 U concentration/ (μmol·L ⁻¹)	叶绿素a Chlorophyll a	叶绿素b Chlorophyll b	总叶绿素 Total chlorophyll
0(对照)	0.70±0.08	0.33±0.03	1.03±0.11
5	0.62±0.02	0.30±0.01*	0.92±0.03
10	0.71±0.03	0.34±0.01	1.05±0.04
15	0.62±0.04	0.31±0.02	0.93±0.06
20	0.67±0.03	0.32±0.01	0.99±0.04
25	0.64±0.03	0.31±0.01	0.95±0.04

2.4 铈胁迫下蚕豆幼苗的根系活力

如图3所示,随着铈处理浓度的增加,蚕豆幼苗根系活力呈先升高后降低的趋势。当铈浓度为15 μmol·L⁻¹时,根系活力达到最大值,比对照组提高了2.4倍。结果表明,铈胁迫下蚕豆幼苗可通过诱导根系增强细胞的呼吸代谢,从而提高对铈的耐受性。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05, n=9$)

The different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05, n=9$)

图2 铈胁迫对蚕豆幼苗光合参数的影响

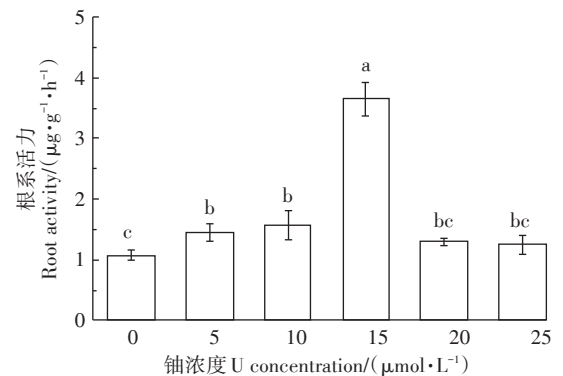
Figure 2 Effects of U stress on photosynthetic parameters of *Vicia faba* L. seedlings

2.5 铈胁迫下蚕豆幼苗光合作用相关基因的表达

RNA-seq 结果显示,铈对光合作用的光反应途径、卡尔文循环途径及光呼吸途径相关基因的表达具有明显的抑制作用(90个DEGs;3个上调,87个下调)(图4和表3)。例如,在光反应途径中,高浓度铈显著地抑制了光反应电子传递链途径中相关基因的表达(57个下调)(图4A和表3)。在卡尔文循环途径中,多种关键酶的基因也被显著抑制,如 transketolase gene(4.91)、aldolase gene(6.27)、triosephosphate isomerase gene(6.67)(图4B和表3)。在光呼吸途径中,高浓度铈也显著抑制了光呼吸代谢途径相关基因的表达(图4C和表3)。结果表明,铈胁迫导致蚕豆幼苗光合作用效率降低,其机理是高浓度铈损伤了光反应途径中的电子传递链,抑制了卡尔文循环途径和光呼吸途径。

2.6 铈胁迫下蚕豆幼苗线粒体电子传递途径相关基因的表达

如图4D和表4所示,在高浓度铈胁迫条件下,线粒体呼吸代谢途径相关基因表达量明显增加,共检测到27个差异表达基因,包括23个显著上调基因和



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05, n=3$)

The different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05, n=3$)

图3 铈胁迫对蚕豆根系活力的影响

Figure 3 Effects of U stress on root activity of *Vicia faba* L.

4个显著下调基因。例如,铈诱导 ATP synthesis. alternative oxidase gene、ATP synthesis. NADH - DH. complex I 和 ATP synthesis. NADH - DH. type II . internal matrix gene 的表达量分别增加了3.97、3.35倍和3.33倍(表4),表明植物根系通过加强自身的呼吸代谢,提高植物对铈毒害作用的耐受能力,该结果与根系活力的结果一致。

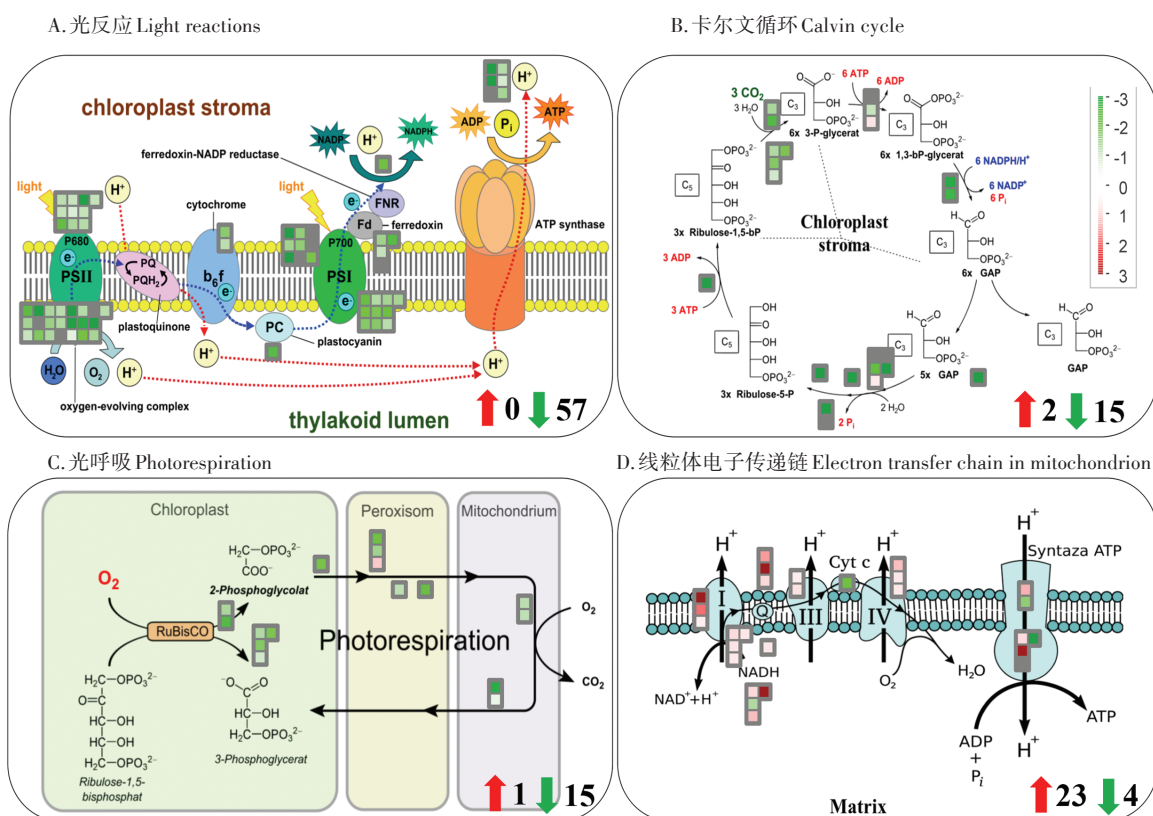
表3 铈胁迫下与光合作用途径相关的差异表达基因(前3位)

Table 3 List of differentially expressed genes(TOP3) related to photosynthesis pathway under U stress

途径 Pathways/ID	基因名称 Gene name	功能描述 Description	折叠倍数 log ₂ FC
光反应 Light reactions(57 DEGs, 0 up and 57 down)			
dn8023_c0_g1_i1	ATP synthase. beta subunit	ATP synthase subunit beta, mitochondrial precursor	-6.81
dn2647_c0_g1_i1	PS II polypeptide subunits	Photosystem II subunit X (PSBX)	-4.42
dn25716_c0_g1_i1	PS II polypeptide subunits	Mog1/PsbP/DUF1795-like photosystem II reaction center PsbP family protein	-4.03
卡尔文循环 Calvin cycle(17 DEGs, 2 up and 15 down)			
dn28725_c0_g1_i1	triosephosphate isomerase(TPI)	Triosephosphate isomerase, cytosolic(TIM)	-6.67
dn7161_c0_g1_i1	aldolase	Fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme 1	-6.27
dn30764_c0_g1_i1	transketolase	Transketolase, chloroplast precursor(TK)	-4.91
光呼吸 Photorespiration(16 DEGs, 1 up and 15 down)			
dn13380_c0_g1_i1	serine hydroxymethyltransferase	Serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial precursor	-2.91
dn22093_c0_g2_i4	rubisco small subunit	Ribulose biphosphate carboxylase small chain, chloroplast precursor	-2.61
dn22783_c0_g1_i1	aminotransferases peroxisomal	Alanine:glyoxylate aminotransferase(AGT)	-2.38
总计:光合作用途径 photosynthetic metabolic pathways(90 DEGs, 3 up and 87 down)			

注:正值代表基因表达上调,负值代表基因表达下调。下同。

Note: Positive values are up-regulated, and negative values are down-regulated. The same below.



红色方块代表上调基因,绿色方块代表下调基因

Red squares represent up-regulated genes and green squares represent down regulated genes

图4 铈胁迫下与光合作用和线粒体电子传递链相关的差异表达基因 Mapman 可视化分析

Figure 4 Mapman visualization analysis of differentially expression gene related to photosynthesis and mitochondrial electron transport under U stress

表4 铈胁迫下与线粒体电子传递途径相关的差异表达基因(前3)

Table 4 List of differentially expressed genes(TOP3) related to mitochondrial electron transport pathway under U stress

途径 Pathways/ID	基因名称 Gene name	功能描述 Description	折叠倍数 Log ₂ FC
dn10595_c0_g1_i1	alternative oxidase	Encodes AOX1a	3.97
dn9656_c0_g1_i1	NADH-DH. complex I	Encodes NAD(P)H	3.35
dn23587_c0_g6_i1	NADH-DH. type II . internal matrix	alternative NAD(P)H dehydrogenase 2(NDA2)	3.33
总计:线粒体电子传递 Mitochondrial electron transport(27 DEGs, 23 up and 4 down)			

3 讨论

3.1 铈对蚕豆幼苗生长发育及根系结构的影响

植物的生物量是反映其生长状况的重要指标^[26]。在一定浓度范围内的重金属胁迫下,一般表现为低浓度促进植物生长和高浓度抑制植物生长^[27-28]。例如,Misson 等^[29]的研究表明,在没有磷的情况下,低浓度(2 μmol·L⁻¹)的铈胁迫比对照组(0 μmol·L⁻¹)增加了植物生物量,而高浓度(50 μmol·L⁻¹和500 μmol·L⁻¹)的铈胁迫导致植物生物量分别减少了40%和69%,其地上部分别下降25%和38.5%。本研究发现铈胁迫下蚕豆的生物量略有下降,但差异不显著,推测可能与铈胁迫时间、浓度和植物种类不同有关。

已有研究表明,铈主要在植物根系中积累,而向地上部转移的铈含量极低^[7,30]。我们的研究结果与此类似,与对照组相比,铈胁迫的蚕豆根系中铈的累积量是地上部的数万倍,且传递系数极低。有研究证实,由于根系细胞壁的阻滞作用^[31-32],过量的重金属累积在植物根系,以缓解重金属对植物地上部的毒害,但会对根系造成损害。例如,镉会诱导植物根部的边缘细胞脱落;随着镉浓度的增加,根冠边缘的细胞数量也会增加,由此产生的边缘细胞形成黏液层,防止镉进入根部^[33]。植物根系对铈酰离子有较高的吸附或积累作用,而铈向茎叶的迁移受细胞壁沉降的限制^[34]。与此结果类似的是,我们发现高浓度的铈胁迫会导致植物根部的根冠脱落。与U-0 μmol·L⁻¹组相比,U-25 μmol·L⁻¹组的根尖细胞壁在透射电镜下出现黑色沉淀物。这些结果表明,根系细胞壁阻碍了铈向地上部的转移,这可能是蚕豆耐受铈胁迫的重要原因。付倩等^[12]通过研究蚕豆对铈的吸收及其亚细胞分布,也得出了类似的结论。

3.2 铈对蚕豆幼苗光合作用及其相关基因表达的影响

光合作用是在植物叶绿体内进行的储能过程,其受叶绿素含量的影响^[35]。另外,光合参数能够直接反映光合作用的强弱。研究表明,在高浓度铈(U-25 μmol·L⁻¹)胁迫下,蚕豆幼苗的叶绿素含量有所下降

但并不显著,而光合参数(除胞间CO₂浓度外)显著降低。前人研究表明,重金属胁迫下,叶绿素含量、净光合速率和蒸腾速率降低,而胞间CO₂浓度升高^[36-37]。我们推测,高浓度铈胁迫对蚕豆的光合效率有明显的抑制作用,但在短时间(72 h)内叶绿素没有被破坏。植物光合作用的变化受到相关基因的调控。Houot 等^[38]的研究表明,在镉胁迫下,大量参与光合作用的基因(通常提供ATP和NADPH)表达下调,以适应镉胁迫。我们的研究结果也表明,高浓度的铈胁迫显著抑制了植物光合作用中光反应途径、卡尔文循环途径和光呼吸途径相关基因的表达。

3.3 铈对蚕豆幼苗根系活力和呼吸代谢相关基因表达的影响

根系活力可以反映根系吸收水分和养分的能力,甚至与重金属的迁移有关^[28,39-40]。在本研究中,我们发现铈浓度在0~25 μmol·L⁻¹范围内,蚕豆幼苗的根系活力呈现先升高后降低的趋势。我们认为,在低浓度铈胁迫下植物能够通过增强根系活力来维持自身正常的生理代谢,而当铈浓度过高时会对植物结构造成损伤,从而导致根系活力下降。田小霞等^[40]在研究镉对马蔺根系活力的影响时也得到了类似的结果。逆境胁迫下,线粒体中与电子传递链相关基因的表达受到影响,其负责控制植物体内ATP的水解和能量释放的过程,释放的能量主要用于抵抗胁迫^[41-42]。Irani 等^[43]的研究发现,在逆境胁迫下,拟南芥茎叶中与线粒体电子传递相关基因的表达有所增强,以提高植物的抗逆性。与此类似,我们的研究结果表明高浓度的铈胁迫诱导了蚕豆幼苗根系的线粒体中呼吸电子传递途径相关基因的高表达。

4 结论

(1)在铈胁迫下,蚕豆根系能阻止大部分铈向地上部转移,从而维持植株地上部的正常生长。然而,蚕豆根系中铈的过量累积造成了根系损伤,影响植物的生理代谢活动。

(2)高浓度的铈胁迫降低了蚕豆幼苗的光合效

率,抑制了光合作用过程中光反应途径、卡尔文循环途径和光呼吸途径相关基因的表达。在一定的铀浓度范围内,蚕豆幼苗的根系活力呈现出先升高后降低的趋势,高浓度的铀胁迫诱导了根系线粒体中呼吸电子传递途径相关基因的高表达。

(3)在铀胁迫下,蚕豆幼苗的光合作用受到影响,但其根系的呼吸代谢有所增强,从而适应铀胁迫环境。蚕豆对铀具有一定的耐受性,但由于铀主要累积在其根系,因此不能作为铀的富集植物。

参考文献:

- [1] 陈润羊, 花明. 铀矿资源对我国核电发展战略影响的研究[J]. 矿山机械, 2015, 43(11): 7-11.
CHEN Run-yang, HUA Ming. Research on influence of uranium resource on national nuclear power development strategy[J]. *Mining & Processing Equipment*, 2015, 43(11): 7-11.
- [2] 张彪, 张晓文, 李密, 等. 铀尾矿污染特征及综合治理技术研究进展[J]. 中国矿业, 2015, 24(4): 58-62.
ZHANG Biao, ZHANG Xiao-wen, LI Mi, et al. The characteristics and research progress of uranium tailings comprehensive treatment technology[J]. *China Mining Magazine*, 2015, 24(4): 58-62.
- [3] Milja T E, Prathish K P, Rao T P. Synthesis of surface imprinted nanospheres for selective removal of uranium from simulants of Sambhar salt lake and ground water[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 188(1/2/3): 384-390.
- [4] Neves M O, Abreu M M, Figueiredo V. Uranium in vegetable food-stuffs: Should residents near the Cunha Baixa uranium mine site (Central Northern Portugal) be concerned?[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2012, 34(2): 181-189.
- [5] 王浩, 王艳琴. 铀污染土壤的植物修复技术[J]. 环境与发展, 2019, 31(3): 36-38, 40.
WANG Hao, WANG Yan-qin. Phytoremediation for soil contaminated uranium[J]. *Environment and Development*, 2019, 31(3): 36-38, 40.
- [6] 王兴利, 吴晓晨, 王晨野, 等. 水生植物生态修复重金属污染水体研究进展[J]. 环境污染与防治, 2020, 42(1): 107-112.
WANG Xing-li, WU Xiao-chen, WANG Chen-ye, et al. Research progress on ecological remediation of heavy metal polluted water by aquatic plants[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2020, 42(1): 107-112.
- [7] 陈霞, 唐运来, 周璐璐, 等. 铀在小麦幼苗中的积累分布及其对叶片光系统活性的影响[J]. 西北植物学报, 2012, 32(12): 2457-2463.
CHEN Xia, TANG Yun-lai, ZHOU Lu-lu, et al. Accumulation and distribution of uranium in wheat seedlings and the effect of uranium on the photosystem activities[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2012, 32(12): 2457-2463.
- [8] 赵鲁雪, 罗学刚, 唐永金, 等. 铀污染环境植物的光合生理变化及对铀的吸收转移[J]. 安全与环境学报, 2014, 14(2): 299-304.
ZHAO Lu-xue, LUO Xue-gang, TANG Yong-jin, et al. Photosynthetic physiological changes and the uranium accumulation of plants in the uranium contaminated environment[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2014, 14(2): 299-304.
- [9] 刘韬. 香蒲对低浓度含铀废水处理效果的试验研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2014: 37-43.
LIU Tao. Experimental study on the treatment effect of *Typha orientalis* on low concentration uranium containing wastewater[D]. Hengyang: University of South China, 2014: 37-43.
- [10] Mathew D C, Ho Y N, Gicana R G, et al. A rhizosphere-associated symbiont, *Photobacterium* spp. strain MELD1, and its targeted synergistic activity for phytoprotection against mercury[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(3): e0121178.
- [11] Alyemeni M N, Almohisen I A. Traffic and industrial activities around Riyadh cause the accumulation of heavy metals in legumes: A case study[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2014, 21(2): 167-172.
- [12] 付倩, 杨垒滢, 赖金龙, 等. 蚕豆对铯的吸收蓄积及亚细胞分布研究[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 297-304.
FU Qian, YANG Lei-yan, LAI Jin-long, et al. Tissue accumulation and subcellular distribution of cesium in *Vicia faba*[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(6): 297-304.
- [13] 张嘉桐, 关颖慧, 司莉青, 等. Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 复合胁迫对桑树光合作用的影响[J]. 北京林业大学学报, 2018, 40(4): 16-23.
ZHANG Jia-tong, GUAN Ying-hui, SI Li-qing, et al. Effects of Pb^{2+} and Cd^{2+} combined stress on photosynthesis of *Morus alba*[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2018, 40(4): 16-23.
- [14] 张艳, 王丹, 李黎. 豌豆对 U 和 Cd 复合胁迫反应及其积累特征[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2013, 31(1): 55-59.
ZHANG Yan, WANG Dan, LI Li. Response of *peas* to U and Cd combined stress and their accumulation characteristic[J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2013, 31(1): 55-59.
- [15] 吴恒梅, 纪艳, 姜成, 等. 重金属镉对丝瓜种子萌发及根系活力的影响[J]. 北方园艺, 2012(11): 38-40.
WU Heng-mei, JI Yan, JIANG Cheng, et al. Effects of heavy metal cadmium on seed germination and root activity of *Luffa cylindrica*[J]. *Northern Horticulture*, 2012(11): 38-40.
- [16] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报, 2001(1): 92-99.
JIANG Xing-yu, ZHAO Ke-fu. Mechanism of heavy metal injury and resistance of plants[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2001(1): 92-99.
- [17] 赵继武, 罗学刚, 王焯, 等. 黑麦草对铀胁迫的光合响应及铀吸收特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(11): 2456-2464.
ZHAO Ji-wu, LUO Xue-gang, WANG Zhuo, et al. Photosynthetic response of ryegrass to uranium stress and the absorption characteristics of enriched uranium[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(11): 2456-2464.
- [18] 徐小逊, 董袁媛, 邓玉兰, 等. 镉胁迫对稀荇菜生长及光合作用相关参数的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(9): 1672-1679.
XU Xiao-xun, DONG Yuan-yuan, DENG Yu-lan, et al. Effects of cadmium stress on growth and photosynthetic parameters of *Sigesbeckia orientalis* L.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(9): 1672-1679.
- [19] 龚红梅, 李卫国. 锌对植物的毒害及机理研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(29): 14009-14015.
GONG Hong-mei, LI Wei-guo. Research progress on the toxicity of zinc to plants and its mechanism[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*

- ences, 2009, 37(29):14009-14015.
- [20] 和淑娟, 王宏镔, 王海娟, 等. 砷胁迫下3-吲哚乙酸对不同砷富集能力植物根系形态和生理的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(5):878-885.
- HE Shu-juan, WANG Hong-bin, WANG Hai-juan, et al. Effects of indole-3-acetic acid on morphologic and physiological characteristics of root systems of plants with different arsenic-accumulating abilities under As stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(5):878-885.
- [21] 高慧娟, 吕昕培, 王润娟, 等. 转录组测序在林草植物抗逆性研究中的应用[J]. 草业学报, 2019, 28(12):184-196.
- GAO Hui-juan, LÜ Xin-pei, WANG Run-juan, et al. Application of RNA-seq technology in research on herb shrub and stress resistance [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(12):184-196.
- [22] 张健, 唐露, 张雅洁, 等. 转录组测序技术在植物水淹胁迫研究中的应用[J]. 分子植物育种, 2019, 17(4):1191-1202.
- ZHANG Jian, TANG Lu, ZHANG Ya-jie, et al. Application of transcriptome sequencing technique in the study of waterlogging stress in plants[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(4):1191-1202.
- [23] Brooks L, Strable J, Zhang X, et al. Microdissection of shoot meristem functional domains[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(5):e1000476.
- [24] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2009:88-91.
- ZHANG Zhi-liang, QU Wei-jing, LI Xiao-fang. Experimental guidance of plant physiology[M]. 4th Edition. Beijing: Higher Education Press, 2009:88-91.
- [25] Dalal M, Sahu S, Tiwari S, et al. Transcriptome analysis reveals interplay between hormones, ROS metabolism and cell wall biosynthesis for drought-induced root growth in wheat[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 130:482-492.
- [26] 王艳芳, 悦飞雪, 李冬, 等. 镉胁迫对不同基因型玉米生长和镉吸收分配的影响[J]. 核农学报, 2019, 33(7):1440-1447.
- WANG Yan-fang, YUE Fei-xue, LI Dong, et al. Effects of cadmium stress on plant growth, cadmium absorption and distribution of different genotypes of maize[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(7):1440-1447.
- [27] 严明理, 冯涛, 向言词, 等. 铀尾沙对油菜幼苗生长和生理特征的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(8):4215-4222.
- YAN Ming-li, FENG Tao, XIANG Yan-ci, et al. Effects of uranium tailings on growth and physiological characteristics of *Brassica* seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(8):4215-4222.
- [28] Aibibu N, Liu Y, Zeng G, et al. Cadmium accumulation in vetiveria zizanioides and its effects on growth, physiological and biochemical characters[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(16):6297-6303.
- [29] Misson J, Henner P, Morello M, et al. Use of phosphate to avoid uranium toxicity in *Arabidopsis thaliana* leads to alterations of morphological and physiological responses regulated by phosphate availability[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 67(2):353-362.
- [30] Saenen E, Horemans N, Vanhoudt N, et al. Oxidative stress responses induced by uranium exposure at low pH in leaves of *Arabidopsis thaliana* plants[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2015, 150:36-43.
- [31] 刘清泉, 陈亚华, 沈振国, 等. 细胞壁在植物重金属耐性中的作用[J]. 植物生理学报, 2014, 50(5):605-611.
- LIU Qing-quan, CHEN Ya-hua, SHEN Zhen-guo, et al. Roles of cell wall in plant heavy metal tolerance[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, 50(5):605-611.
- [32] 晋海军, 王海霞. 植物对重金属镉的吸收与耐受机制研究进展[J]. 中国农学通报, 2019, 35(24):52-57.
- JIN Hai-jun, WANG Hai-xia. Plant absorption and tolerance mechanism to heavy metal cadmium: Research progress[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2019, 35(24):52-57.
- [33] Balestri M, Ceccarini A, Forino L M, et al. Cadmium uptake, localization and stress-induced morphogenic response in the fern *Pteris vittata*[J]. *Planta*, 2014, 239(5):1055-1064.
- [34] Laurette J, Larue C, Mariet C, et al. Influence of uranium speciation on its accumulation and translocation in three plant species: Oilseed rape, sunflower and wheat[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 77:96-107.
- [35] 刘柿良, 杨容子, 马明东, 等. 土壤镉胁迫对龙葵(*Solanum nigrum* L.)幼苗生长及生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(2):240-247.
- LIU Shi-liang, YANG Rong-jie, MA Ming-dong, et al. Effects of soil cadmium on growth and physiological characteristics of *Solanum nigrum* L. Plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(2):240-247.
- [36] Vernay P, Gauthier-Moussard C, Hitmi A. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L.[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(8):1563-1575.
- [37] Wang Q, Li Z, Cheng S, et al. Influence of humic acids on the accumulation of copper and cadmium in *Vallisneria spiralis* L. from sediment [J]. *Environmental Earth Sciences*, 2010, 61(6):1207-1213.
- [38] Houot L, Floutier M, Marteyn B, et al. Cadmium triggers an integrated reprogramming of the metabolism of *Synechocystis* PCC6803, under the control of the Slr1738 regulator[J]. *BMC Genomics*, 2007, 8:350.
- [39] Shahid M, Arshad M, Kaemmerer M, et al. Long-term field metal extraction by pelargonium: Phytoextraction efficiency in relation to plant maturity[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2012, 14(5):493-505.
- [40] 田小霞, 毛培春, 郭强, 等. 镉胁迫对马蔺根系活力和矿质营养元素吸收的影响[J]. 西南农业学报, 2019, 32(9):2090-2096.
- TIAN Xiao-xia, MAO Pei-chun, GUO Qiang, et al. Effects of cadmium stress on root activity and mineral nutrient absorption of *Iris lactea* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32(9):2090-2096.
- [41] Ding Z, Zhang Y, Xiao Y, et al. Transcriptome response of cassava leaves under natural shade[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:31673.
- [42] Li L, Hu L, Han L P, et al. Expression of turtle riboflavin-binding protein represses mitochondrial electron transport gene expression and promotes flowering in *Arabidopsis*[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14:381.
- [43] Irani S, Trost B, Waldner M, et al. Transcriptome analysis of response to *Plasmodiophora brassicae* infection in the *Arabidopsis* shoot and root[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1):23.