

谷胱甘肽对小麦幼苗铜毒害的缓解作用及其与氮、硫、磷积累的相关性

彭向永¹, 常 宝¹, 徐术人¹, 吴巍莉², 石 磊¹

(1.山东曲阜师范大学生命科学学院, 山东 曲阜 273165; 2.山东省枣庄市国土资源局, 山东 枣庄 277800)

摘 要:采用水培法,对外源谷胱甘肽(GSH)缓解小麦幼苗铜毒害及其与氮、硫、磷等元素积累的相关性进行了研究。结果表明,Cu处理(T0组)显著抑制小麦幼苗的生长发育,导致根长、茎叶长、生物量、叶绿素和类胡萝卜素含量以及氮元素积累量下降,诱导了植株蛋白质、内源 GSH 含量以及硫、磷元素积累量上升。随施用外源 GSH 浓度的升高,GSH 处理(T1、T2、T3 组)的小麦幼苗茎叶长、根长、生物量、叶绿素 a、b 和类胡萝卜素含量、蛋白质含量先上升后下降,内源 GSH 含量以及氮、硫、磷等营养元素积累量持续上升;其中,T2 组小麦幼苗的各项指标与 T0 组差异均达到显著水平($P<0.05$),与对照组(CK)无显著差异。外源 GSH 促进了植株对铜离子的吸收、转运和积累,而外源和内源 GSH 均与铜胁迫下小麦幼苗氮、硫、磷等营养元素的积累呈极显著正相关($P<0.01$),其中以 T2 处理组缓解小麦幼苗铜毒害的作用最显著。

关键词:外源谷胱甘肽;铜毒害;小麦幼苗;氮;硫;磷

中图分类号:X503.231 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)05-0867-07

Effects of Glutathione on Alleviation of Copper Toxicity and Its Correlation with Accumulation of Nitrogen, Sulfur and Phosphorus in Wheat Seedlings

PENG Xiang-yong¹, CHANG Bao¹, XU Shu-ren¹, WU Wei-li², SHI Lei¹

(1.College of Life and Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, China; 2.Zaozhuang Municipal Land & Resources Bureau of Shandong Province, Zaozhuang 277800, China)

Abstract: The effects of exogenous glutathione on alleviation of copper toxicity and its correlation with contents of nitrogen, sulfur and phosphorus in wheat seedlings stressed by copper sulfate were studied in a hydroponic culture. The results indicated that wheat seedlings growth, stem and root length, biomass, chlorophyll and carotenoids contents, nitrogen accumulation were inhibited by $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ treatment at $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ concentration, whereas protein, endogenous GSH, sulfur and phosphorus contents were raised. The length of stem and root, biomass, chlorophyll a, b, carotenoids and protein contents increased with the increase of exogenous GSH until the GSH was $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, and then decreased. Meanwhile, endogenous GSH content as well as nitrogen, sulfur, phosphorus accumulation rised up. There was a significant difference between T2 and T0 treatment, but there was no such difference with control. In general, exogenous GSH could promote absorbing, trans-
porting, and accumulating of copper in wheat seedlings. Exogenous and endogenous GSH remarkably improved accumulation of nitrogen, sulfur, phosphorus under copper stress ($P<0.01$). T2 treatment exhibited the highest level of alleviation of copper toxicity in wheat seedlings.

Keywords: exogenous GSH; copper toxicity; wheat seedling; nitrogen; sulfur; phosphorus

铜是植物生长发育所必需的微量元素,也是造成生态环境污染的主要金属元素。当植物吸收并积累铜

超过一定量时,可引起叶绿素含量下降,抑制根的伸长,活性氧产生速率上升,丙二醛(MDA)、游离脯氨酸含量升高等,严重时会造成机体死亡^[1];作物中富集的铜还可通过食物链给人类健康带来潜在的危害^[2]。由半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸各一分子结合形成的谷胱甘肽(GSH)是植物体内一种必需的代谢物和调节物,具有重要的抗氧化和整合解毒作用^[3]。逆境条件下

收稿日期:2011-10-27

基金项目:国家自然科学基金项目(30970640);曲阜师范大学校级课题(XJ201109);校地联合横向课题(00-34749)

作者简介:彭向永(1977—),男,山东滕州人,硕士,讲师,主要从事植物生理生化教学与科研工作。E-mail:pxy7303@yahoo.com.cn

保持较高的 GSH 含量,可有效还原植物细胞中-S-S-键,增强膜蛋白的稳定性,提高植物对逆境的抗性和适应性^[4];重金属胁迫下,拟南芥 GSH 还原酶活性显著升高^[5]。施用外源 GSH 后,可提高盐胁迫下植物的叶绿素、内源 GSH、 V_E 含量以及抗氧化酶活性,减缓 MDA 上升速度,增强细胞膜稳定性^[6-7]。总的来看,前人对 GSH 缓解植物逆境胁迫的研究多集中在 GSH 合成途径、膜结构稳定性、抗氧化酶活性等方面^[8],而逆境条件下 GSH 与氮、硫、磷元素积累的关系却未见报道。因此,我们利用外源 GSH 处理铜胁迫下的小麦幼苗,研究 GSH 对铜胁迫下小麦生长的形态、理化指标以及铜、氮、硫、磷元素积累的影响,以探讨 GSH 缓解植物重金属胁迫及其与氮、硫、磷营养元素积累的关系。

1 材料与方法

1.1 材料培养及处理

供试小麦为市售高蛋白小麦品种“北农 9549”。选粒大饱满均匀的小麦种子,2.5%次氯酸钠消毒 10 min,自来水冲洗,40 °C 温水浸泡 2 h,平铺在衬有纱布的白瓷盘中,25 °C 培养,光照强度 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,昼夜交替时间 12 h/12 h,每日补给蒸馏水。1 周后,幼苗去除种皮,移入 Hoagland 全营养液中继续培养 1 周。

取生长一致的小麦幼苗,作如下培养处理。A,对照组 (CK):Hoagland 全营养液;B,Cu 处理组 (记作 T0):含有 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CuSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (由预备试验确定)的 Hoagland 全营养液;C,GSH 处理组:含有 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CuSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的 Hoagland 全营养液,将叶片分别浸泡在 1.0 、 2.5 、 $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (分别记作 T1、T2、T3)的 GSH 溶液中 (添加 2 滴吐温-20,以增加溶液与小麦叶片的附着能力)2 min,每日 1 次。对照组和 Cu 处理

组以蒸馏水代替,培养条件不变,7 d 后取小麦植株测定各种指标。每处理设 3 个重复。

1.2 测定指标

(1)小麦根、茎、叶长及生物量:每处理取 12 株幼苗,先用自来水洗净,再用去离子水冲洗,拭干,分别测定茎叶长和根长。之后称重,95 °C 杀青 15 min,65 °C 烘干、称重,计算生物量。

(2)小麦幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的测定参考《植物生理学实验技术》^[9],用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(3)GSH 采用 GSH 试剂盒 (南京建成生物研究所)进行测定,用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(4)总氮和蛋白质含量:总氮含量采用微量凯氏定氮法^[9],用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示;蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法^[10],用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(5)硫、磷、铜含量:小麦幼苗用混酸 (HClO_4 : $\text{HNO}_3=1:1$)消化 24 h,0.45 μm 滤膜过滤,其中:硫含量采用硫酸钡浊度法进行测定^[11],用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示;磷含量采用定磷试剂法^[9],用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示;铜含量用原子吸收法 (TAS-990,普析通用仪器公司)进行测定,用 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示^[12]。

1.3 数据分析

采用 Excel 2003 及 SPSS13.0 软件进行数据处理与方差分析和 LSD (0.05 水平)多重比较。

2 结果

2.1 铜毒害及外源 GSH 对小麦幼苗生长的影响

通过对铜毒害并添加外源 GSH 后小麦幼苗生长情况的研究 (图 1)表明,低于 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铜浓度时,虽然小麦幼苗叶片略微褪绿,并伴随有少数叶尖干枯,但生长势良好,植株直立且健壮; $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铜浓度下,植株开始出现褪绿、干叶,茎叶矮小、不



硫酸铜浓度 (由左至右): 0、25、50、100、150、300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Concentration of copper sulfate (left to right): 0, 25, 50, 100, 150, 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

图 1 铜毒害对小麦幼苗生长的影响

Figure 1 Effects of copper toxicity on the growth in wheat seedlings

直立,根系变短等抑制现象,300 mg·g⁻¹ 浓度下,植株大部分叶片干枯死亡。因此,选择 150 mg·L⁻¹ 硫酸铜为较适宜的毒害浓度。

由图 2 可以看出,连续施用外源 GSH 一周后,小麦幼苗叶片在 2.5 mmol·L⁻¹ 和 5.0 mmol·L⁻¹ 浓度下恢复较好,生长健壮,叶片未褪绿,根系长,明显好于 Cu 处理组,而 1.0 mmol·L⁻¹ 浓度下,根系较短,植株明显矮于其他两个 GSH 浓度处理。

2.2 外源 GSH 对铜毒害小麦生物量、根长、茎叶长的影响

通过对铜毒害并添加外源 GSH 后小麦幼苗生物量、根长、茎叶长的研究(表 1)表明,Cu 处理(T0)组小麦幼苗生物量、茎叶长、根长均显著低于对照组(CK),说明 150 mg·L⁻¹ 硫酸铜毒害作用明显。GSH 处理组中,随外源 GSH 浓度升高,小麦幼苗生物量、茎叶长和根长均先上升后下降。T2 组生物量最高为 15.295%,与 CK 及 T3 组无显著差异,与其他组差异显著($P<0.05$);根长达到 13.144 cm,与 CK 无显著差异,与其他组差异显著($P<0.05$);茎叶长为 24.030 cm,与其他处理组差异显著($P<0.05$)。结果表明,GSH 可提高 Cu 胁迫下小麦幼苗生物量、茎叶长和根长,且以 T2 组(2.5 mmol·L⁻¹)效果最佳。

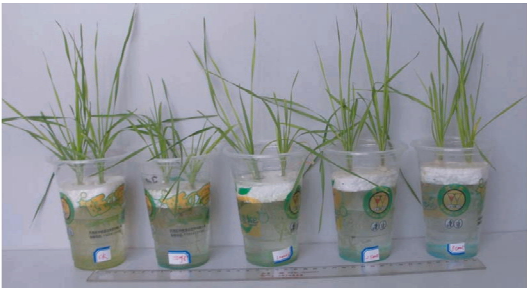
表 1 外源 GSH 处理对铜毒害小麦生物量、根长及茎叶长的影响
Table 1 Effects of exogenous GSH on stem length, root length and biomass of wheat seedlings with copper toxicity

处理 Treatment	生物量/% Biomass	茎叶长/cm Stem length	根长/cm Root length
CK	14.535±0.117ab	18.437±0.281b	11.994±0.245a
T0	12.813±0.372c	13.694±0.640c	7.744±0.600c
T1	13.723±0.637bc	15.961±0.464bc	8.828±0.762bc
T2	15.295±0.878a	24.030±0.629a	13.144±1.268a
T3	14.506±0.431ab	17.220±0.365b	9.100±0.394b

注: $P<0.05$ 显著水平,下表同。
Note: Significant difference at $P<0.05$, the flowing tables are same.

2.3 外源 GSH 对铜毒害小麦幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

通过对铜毒害并添加外源 GSH 后小麦幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的研究(表 2)表明,T0 组小麦幼苗叶绿素 a 以及类胡萝卜素含量与 CK 及 GSH 处理组差异显著,而叶绿素 b 含量无显著差异($P<0.05$)。GSH 处理组中,随外源 GSH 浓度升高,叶绿素 a、b 以及类胡萝卜素含量均呈先上升后下降趋势;T2 组叶绿素 a、b 含量分别达到 1.203、0.411 mg·g⁻¹,类胡萝卜素含量为 0.645 mg·g⁻¹。铜毒害处理虽然降低了小麦幼苗叶绿素 b 含量,但与其他各组相比均未达到显著



处理(由左至右):CK(对照)、Cu 处理、GSH 处理(1.0、2.5、5.0 mmol·L⁻¹)
From left to right: CK (control), Cu treatment, GSH treatment (1.0, 2.5, 5.0 mmol·L⁻¹)
图 2 外源 GSH 对铜毒害下小麦幼苗生长的影响
Figure 2 Effects of exogenous GSH on the growth of wheat seedlings with Cu toxicity

表 2 外源 GSH 对铜毒害小麦幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响
Table 2 Effects of exogenous GSH on chlorophyll and carotenoid contents of wheat seedlings with copper toxicity

处理 Treatment	叶绿素 a/mg·g ⁻¹ (FW) Chla content	叶绿素 b/mg·g ⁻¹ (FW) Chlb content	叶 a/叶 b Chla/Chlb	类胡萝卜素/mg·g ⁻¹ (FW) Carotenoid
CK	1.187±0.042a	0.386±0.008	3.075	0.645±0.008a
T0	0.941±0.088b	0.345±0.115	2.727	0.483±0.032b
T1	1.169±0.074a	0.399±0.104	2.930	0.600±0.048a
T2	1.203±0.064a	0.411±0.051	2.927	0.645±0.035a
T3	1.166±0.080a	0.401±0.109	2.908	0.620±0.033a

差异水平,叶绿素 a/b 值也呈先下降后上升趋势。结果表明,外源 GSH 对铜毒害下小麦幼苗叶绿素 a 和类胡萝卜素含量比对叶绿素 b 的影响大。

2.4 外源 GSH 对铜毒害小麦幼苗蛋白质、内源 GSH 和铜含量的影响

通过对铜毒害并添加外源 GSH 后小麦幼苗蛋白质、内源 GSH 和铜含量的研究(表 3)表明,虽然 T0 组蛋白质和 GSH 含量受重金属胁迫诱导后略微上升,但与 CK 无显著差异;CK 除 Hoagland 培养液成分外,未添加铜离子,所以植株中铜含量仅为 $2.796 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,表明铜是植物生长发育所必需的微量元素。GSH 处理组中,蛋白质含量先上升后下降,T2 组蛋白质含量最高为 $9.075 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,各 GSH 处理浓度间无显著差异,但与 CK 和 T0 组差异显著;内源 GSH 含量随施用外源 GSH 浓度的升高而持续上升,施用外源 GSH 的处理组与 CK 和 T0 组差异均达到了显著水平,而 T3 组与 T1、T2 组的差异也达到显著水平($P<0.05$)。结果表明, $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铜毒害可诱导小麦幼苗蛋白质和内源 GSH 的合成,施用的外源 GSH 可被小麦幼苗叶片吸收,并显著提高蛋白质和内源 GSH 含量。T0 组小麦幼苗铜积累量达到了 $870.285 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,施用外源 GSH 后,铜积累量随外源 GSH 浓度的升高而增加,各 GSH 处理组与 Cu 处理组差异均达到了显著水平($P<0.05$),说明铜毒害下,小麦幼苗可吸收较多铜离子,而施用外源 GSH 则更提高了铜离子的吸收、转运和积累量。

2.5 外源 GSH 对铜毒害小麦氮、硫、磷含量的影响

通过对铜毒害并施用外源 GSH 后小麦体内氮、

硫、磷含量的研究(表 4)表明,T0 组氮元素积累量低于 CK,且差异显著,硫和磷积累量则高于 CK,但无显著差异,说明 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铜抑制植株对氮元素的吸收,而增加对硫和磷元素的吸收。随施用外源 GSH 浓度升高,小麦幼苗植株氮、硫、磷元素积累量均上升。方差分析表明,各 GSH 处理组的氮元素积累量与 CK 间差异不显著,与 T0 组差异显著;各 GSH 处理组的硫元素积累量与 CK 和 T0 组差异均达到显著水平;各 GSH 处理组的磷元素积累量无显著差异,当 GSH 浓度高于 $2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,与 CK 和 T0 组差异显著,而 GSH 在 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下与 CK 和 T0 组无显著差异($P<0.05$)。结果表明,外源 GSH 影响了铜毒害小麦幼苗氮、硫、磷营养元素的吸收和积累。

2.6 外源和内源 GSH 与 N、S、P 累积量的相关性分析

通过对外源和内源 GSH 与 N、S、P 累积量的相关性分析(图 2 和表 5)表明,外源和内源 GSH 与小麦幼苗中 N、S、P 的积累量均呈极显著正相关($P<0.01$)。外源 GSH 与 N、S、P 积累量的相关系数分别为 $0.698(y=1.496 3x+24.701, r_{0.05}=0.532, r_{0.01}=0.661, n=12, \text{下同})$ 、 $0.851(y=0.413 5x+2.01)$ 和 $0.848(y=0.703 5x+5.022 5)$ 。内源 GSH 与 N、S、P 积累量的相关系数分别为 $0.774(y=2.680 1x+16.212)$ 、 $0.881(y=0.742 2x-0.342 7)$ 和 $0.878(y=1.261 2x+1.026 2)$ 。

3 讨论

铜是有机体必需的一种微量元素,少量的铜对生物体具有积极作用。但土壤中铜含量过高,会造成

表 3 外源 GSH 对铜毒害小麦幼苗叶片蛋白质、内源 GSH 和铜含量的影响

Table 3 Effects of exogenous GSH on protein, endogenous GSH and Cu contents of wheat seedlings with copper toxicity

处理 Treatment	蛋白含量 Protein content/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	内源 GSH 含量 Endogenous GSH content/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	铜含量 Cu content/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)
CK	$6.516\pm 0.335\text{b}$	$3.312\pm 0.465\text{c}$	$2.796\pm 0.236\text{d}$
T0	$7.045\pm 0.950\text{b}$	$3.747\pm 0.779\text{c}$	$870.285\pm 81.016\text{c}$
T1	$8.119\pm 1.121\text{a}$	$4.479\pm 0.403\text{b}$	$2048.930\pm 234.466\text{b}$
T2	$9.075\pm 1.027\text{a}$	$4.586\pm 0.348\text{b}$	$2102.345\pm 84.552\text{b}$
T3	$8.946\pm 0.315\text{a}$	$5.417\pm 1.006\text{a}$	$2859.327\pm 304.380\text{a}$

表 4 外源 GSH 处理对铜毒害小麦幼苗氮、硫和磷含量的影响

Table 4 Effects of exogenous GSH on N, S and P accumulation of wheat seedlings with copper toxicity

处理 Treatment	氮含量 N content/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	硫含量 S content/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	磷含量 P content/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)
CK	$30.857\pm 1.142\text{a}$	$2.024\pm 0.134\text{b}$	$5.263\pm 0.722\text{b}$
T0	$25.042\pm 1.036\text{b}$	$2.263\pm 0.122\text{b}$	$5.448\pm 1.056\text{b}$
T1	$28.883\pm 0.933\text{a}$	$2.983\pm 0.287\text{a}$	$6.681\pm 0.950\text{ab}$
T2	$30.277\pm 1.075\text{a}$	$3.440\pm 0.177\text{a}$	$7.464\pm 0.844\text{a}$
T3	$30.565\pm 1.324\text{a}$	$3.489\pm 0.197\text{a}$	$7.532\pm 1.062\text{a}$

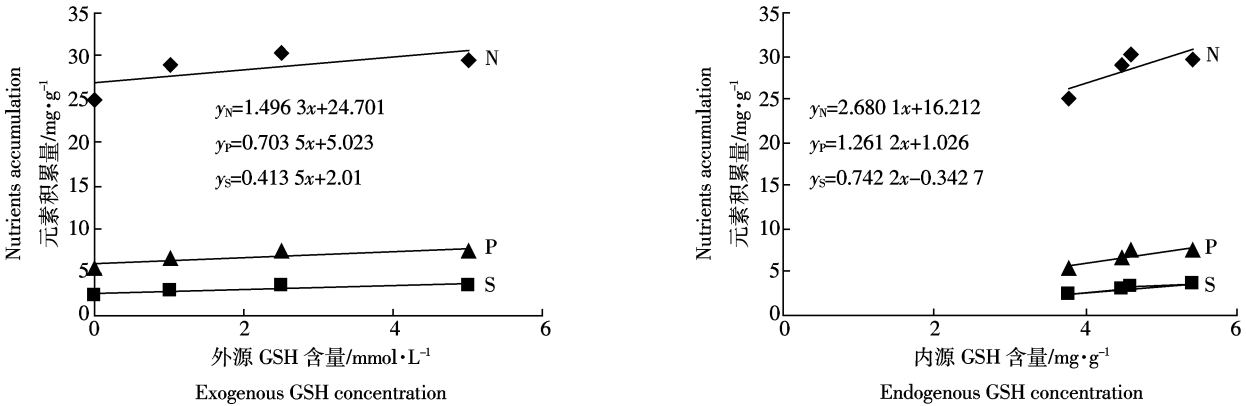


图 3 外源和内源 GSH 与 N、S、P 积累量相关性分析

Figure 3 Correlation of exogenous and endogenous GSH with N,S,P accumulation

表 5 外源和内源 GSH 与 N、S、P 积累量的相关系数

Table 5 Correlation coefficient between exogenous and endogenous GSH and the accumulation of N,S,P

	外源 GSH Exogenous GSH	氮积累量 N accumulation	硫积累量 S accumulation	磷积累量 P accumulation
N	0.698**			
S	0.851**	0.968**		
P	0.848**	0.969**	0.999**	
内源 GSH Endogenous GSH	0.964**	0.774**	0.881**	0.878**

注: ** $P < 0.01$ 极显著水平。Significant difference at $P < 0.01$.

植物根尖硬化,生长抑制,主根不能伸长,须根大量褐变死亡^[13]。本研究进行单独铜胁迫实验发现,在 Hoagland 全营养液中添加 $150 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的硫酸铜,可显著抑制小麦幼苗生长,叶片褪绿(图 1),根据预试验结果,选择 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铜作为铜毒害浓度。

施加外源物质能够提高植物对逆境胁迫的耐受性,如外源钙可缓解盐胁迫对番茄幼苗的伤害作用^[14];抗坏血酸提高盐胁迫下大麦叶绿体内活性氧清除能力^[15];半胱氨酸可缓解小麦幼苗铜胁迫^[16]等。利用基因芯片技术检测表明,重金属胁迫下,拟南芥基因组中 GSH 代谢相关基因的表达上调^[17]。本研究中也发现,对 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铜毒害的小麦幼苗浸施外源 GSH 后,T2 组($2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和 T3 组($5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)小麦幼苗叶片恢复较好,明显好于 T0 组(Cu 处理组)(图 2);随施用 GSH 浓度的升高,小麦幼苗干物质积累量、根长、茎叶长先上升后下降,其中,T2 组最大,并与未施用 GSH 的 CK 差异达到显著水平,表明外源 GSH 可缓解重金属铜等非生物因素对植物造成的逆境胁迫。GSH 是植物有机硫的主要运输和贮存方

式之一^[18],是合成植物金属螯合肽(PCs)的直接前体,植物和一些真菌体内的螯合肽合成酶(PCS)可催化 GSH 聚合而形成不同分子量的 PCs^[19],PCs 可与重金属形成螯合物并转运到液泡内隔离^[20],过量表达 PCs 可提高植株对重金属 Cd 的耐受性^[21]。本研究中小麦幼苗铜积累量随 GSH 施用量增加而呈上升趋势,可能是 GSH 吸收量增加,可以提供给植物足够的前体合成 PCs,PCs 与进入植株体内的重金属螯合并积累在液泡中,缓解了重金属对植物的毒害。

叶绿素是植物进行光合作用的物质基础,重金属胁迫可导致植物叶绿体蛋白中心离子组成发生变化,叶绿素含量降低,植物光合作用能力下降,干物质积累量及蛋白质含量减少,活性氧(ROS)大量产生^[22]。Noctor 等^[3]研究表明,植物体内重要的过氧化氢(H_2O_2)非酶促清除 ROS 途径是 GSH 参与的维生素 C-谷胱甘肽-辅酶(AsA-GSH-NADPH)循环。该过程对清除植物逆境胁迫产生的活性氧,缓解重金属胁迫有重要作用^[23]。本研究中,铜毒害降低了小麦幼苗叶绿素 a/b,表明叶绿素 a 比叶绿素 b 对铜毒害更敏感。施用外源 GSH 可显著提高铜毒害下小麦幼苗的叶绿素 a、类胡萝卜素和蛋白质含量,可能是由于 GSH 降低了 Cu 与叶绿体中蛋白质功能基团-SH 结合或对叶绿素中心离子的取代,保证了光合电子传递链中酶活性及叶绿体色素的合成而提高了植株的光合能力。

植物对氮、硫、磷以及其他元素的吸收是相互协调的,氮源供给充足的情况下,硫的缺乏仍然会导致培养细胞中 NR(硝酸还原酶)的活性下降^[24],硝酸盐的吸收和从根系到叶片的运输受到明显的抑制^[25],抑制侧根的发生,根毛区下移^[26]。无氮培养 72 h 的拟南

芥中 APR(5'-腺苷磷酸硫酸还原酶)活性下降,添加氮源则可恢复其活性^[27]。本试验中,150 mg·L⁻¹ 的硫酸铜处理后,小麦幼苗的氮元素含量下降,这和许多已有的研究一致^[28]。一方面,由于植物体内必需的矿质元素的吸收通常都是由专用的载体来完成,而重金属胁迫下,重金属离子会与必需元素竞争载体上的结合位点,降低了必需元素的吸收;另一方面,重金属胁迫会对植物产生毒害,影响其正常的生理功能,导致植物对矿质元素的吸收和转运能力下降。本研究还发现,与氮元素不同,铜胁迫下小麦幼苗硫和磷的含量增加。孙建云等^[29]的研究结果显示,镉胁迫可促进 Cd 耐性甘蓝对 S、P 的吸收,而对 Cd 敏感性甘蓝效应恰好相反^[30]。张自坤等^[31]发现,铜胁迫下嫁接比自根黄瓜能吸收更多的营养元素。这些结果表明,铜胁迫下植物对 S、P 吸收量增加,可能受植物基因型和生长发育阶段的影响。另外,磷是生物膜主要结构成分,逆境胁迫产生的活性氧攻击生物膜引起膜质过氧化,会加剧细胞衰老、死亡。重金属胁迫可能会刺激植物对磷元素的吸收,有研究表明,低磷环境下,磷酸化作用的加强对植物更好地适应环境胁迫是很必要的^[32];而硫酸盐吸收的增加有利于硫脂的合成,硫脂可以在一定程度上代替磷脂^[33],维持生物膜不被氧化。随外源 GSH 浓度升高,氮、硫、磷的积累量显著高于 Cu 处理组。一方面,GSH 是植物有机硫的主要运输和贮存形式之一,施用外源 GSH 直接补充了机体硫元素,而许多硫元素代谢的中间产物均与植物抗逆境相关,GSH 可从整体上改善机体代谢,缓解逆境胁迫;另一方面,氮、硫、磷以及其他元素离子浓度变化能够引起植物侧根构型、长度、根毛发育等变化^[34],外源 GSH 还可缓解铜离子对根部造成的直接伤害,促进根系发育,增加植物对营养元素的吸收,清除由于铜毒害引起的其他元素吸收障碍。

4 结论

培养液中硫酸铜含量为 150 mg·L⁻¹ 时,显著抑制了小麦幼苗的生长发育,导致根长、茎叶长、干物质积累、叶绿素、类胡萝卜素含量以及氮元素积累量下降,诱导了植株蛋白质、内源 GSH 含量以及硫、磷元素积累量上升;施加外源 GSH 后,缓解了铜对小麦幼苗造成的毒害,提高了植株根长、茎叶长、干物质含量、叶绿素、类胡萝卜素以及内源 GSH 含量,增加了氮、硫、磷等元素的含量,同时也促进了植株对铜离子的吸收、转运和积累,其中 2.5 mmol·L⁻¹ 的外源

GSH 对铜毒害的缓解作用最显著。另外,内源和外源 GSH 与铜毒害小麦植株氮、硫、磷营养元素积累呈极显著正相关。

参考文献:

- [1] Cui X M, Zhang Y K, Wu X B, et al. The investigation of the alleviated effect of copper toxicity by exogenous nitric oxide in tomato plants[J]. *Plant Soil and Environment*, 2010, 56(6):274-281.
- [2] 刘登义, 谢建春, 杨世勇, 等. 铜尾矿对小麦生长发育和生理功能的影响[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(1):126-128.
LIU Deng-yi, XIE Jian-chun, YANG Shi-yong, et al. Effects of copper mine tailings on growth and development and physiological function of wheat[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(1):126-128.
- [3] Foyer C H, Lopez-Delgado H, Dat J F, et al. Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling[J]. *Plant Physiology*, 1997, 100:241-254.
- [4] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular*, 1998, 49:249-279.
- [5] 邱睿, 王兆, 王保莉, 等. 干旱胁迫下硫对小麦叶片 GSH 含量及 GSH-PX 活性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2009, 27(2):148-152.
QIU Rui, WANG Zhao, WANG Bao-li, et al. Effect of sulfur on the content of GSH and the activity of GSH-PX in wheat leaves under drought stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Area*, 2009, 27(2):148-152.
- [6] Gabriella S, Tibor K, Gabor G, et al. Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions[J]. *Journal Plant Growth Regulation*, 2009, 28:66-80.
- [7] 陈沁, 刘友良. 谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用[J]. *作物学报*, 2000, 26(3):365-371.
CHEN Qin, LIU You-liang. Effect of glutathione on active oxygen scavenging system in leaves of barley seedlings under salt stress[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2000, 26(3):365-371.
- [8] Xiang C, Oliver D J. Glutathione metabolic genes coordinately respond to heavy metals and jasmonic acid in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 1998, 10(9):1539-1550.
- [9] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版社, 2000:129-132, 192-203.
GAO Jun-feng. Technology of plant physiology [M]. Xi'an:World Publishing Company, 2000:129-132, 192-203.
- [10] Brandford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.
- [11] 孙彭力, 王慧君. 盐生植物硫元素的测定[J]. *山东环境*, 1994, 62(5):14-15.
SUN Peng-li, WANG Hui-jun. Determination sulfur in halophytes[J]. *Shandong Environment*, 1994, 62(5):14-15.
- [12] 谢苏婧, 谢树莲, 谢宝妹. 藻类植物中钙、镁、铁、锰、铜和锌含量分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2003, 23(3):615-616.
XIE Su-jing, XIE Shu-lian, XIE Bao-mei. Analysis of Ca, Mg, Fe, Mn,

- Cu and Zn in algae[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2003, 23(3):615-616.
- [13] 倪才英, 曾 珩, 黄玉源, 等. 钙对紫云英铜害的解毒作用[J]. 生态环境学报, 2009, 18(3):920-924.
- NI Cai-ying, ZENG Heng, HUANG Yu-yuan, et al. Antidotal function of calcium to resist copper toxicity during the growth of *Astragalus Sinicus* L.[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(3):920-924.
- [14] 杨凤军, 李天来, 臧忠婧, 等. 外源钙施用时期对缓解盐胁迫番茄幼苗伤害的作用[J]. 中国农业科学, 2010, 43(6):1190-1197.
- YANG Feng-jun, LI Tian-lai, ZANG Zhong-jing, et al. Effects of timing of exogenous calcium application on the alleviation of salt stress in the tomato seedlings[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(6):1190-1197.
- [15] Herbette S, Taconnat L, Hugouvieux V, et al. Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of *Arabidopsis* roots and shoots[J]. *Biochimie*, 2006, 88:1751-1765.
- [16] 彭向永, 宋 敏. 外源半胱氨酸对铜胁迫下小麦幼苗生长、铜积累量及抗氧化系统的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(12):3504-3511.
- PENG Xiang-yong, SONG Min. Effects of exogenous cysteine on growth, copper accumulation and antioxidative systems in wheat seedlings under Cu stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(12):3504-3511.
- [17] Lee S, Moon J S, Ko T S, et al. Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase paradoxically leads to hypersensitivity to cadmium stress[J]. *Plant Physiology*, 2003, 131:656-663.
- [18] Noctor G, Gomez L, Vanacker H, et al. Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signaling[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53:1283-1304.
- [19] Ha S B, Smith A P, Howden R, et al. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*[J]. *Plant Cell*, 1999, 11:1153-1164.
- [20] Kim D Y, Bovet L, Kushnir S, et al. AtATM3 is involved in heavy metal resistance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2006, 140:922-932.
- [21] Parisy V, Poinssot B, Owsianowski L, et al. Identification of PAD2 as agamma-glutamylcysteine synthetase highlights the importance of glutathione in disease resistance of *Arabidopsis*[J]. *Plant Journal*, 2007, 49:159-172.
- [22] Penelope A R, Hilen C H. Identification of differential responses of cabbage cultivars to copper toxicity in solution culture[J]. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, 1987, 12(6):928-931.
- [23] 胡筑兵, 陈亚华, 王桂萍, 等. 铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物学通报, 2006, 23(2):129-137.
- HU Zhu-bing, CHEN Ya-hua, WANG Gui-ping, et al. Effects of copper stress on growth, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant enzyme activities of *zea mays* seedlings[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2006, 23(2):129-137.
- [24] Reuveny Z, Dougall D K, Trinity P T. Regulatory coupling of nitrate and sulfate assimilation pathways in cultured tobacco cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 1980, 77(11):6670-6672.
- [25] Karmoker J L, Clarkson D T, Saker L R, et al. Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots[J]. *Planta*, 1991, 185(2):269-278.
- [26] Potters G, Pasternak T P, Guisez Y, et al. Stress-induced morphogenic responses: Growing out of trouble[J]. *Trends in Plant Science*, 2007, 12(3):98-105.
- [27] Koprivova A, Suter M, den Camp R O, et al. Regulation of sulfate assimilation by nitrogen in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2000, 122(3):737-746.
- [28] 翁南燕, 周东美, 武 敬, 等. 铜镉复合胁迫下温度对小麦幼苗生长以及铜、镉和矿质营养元素吸收与亚细胞分布的影响[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(6):607-616.
- WENG Nan-yan, ZHOU Dong-mei, WU Jing, et al. Uptake, subcellular distributions of Cu, Cd and mineral elements, and plant growth for wheat seedlings under stress of Cu and Cd as affected by temperature [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(6):607-616.
- [29] Zhang G P, Fukami M, Sekimoto H. Influence of cadmium on mineral concentrations and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance ant seedling stage[J]. *Field Crops Research*, 2002, 77:93-98.
- [30] 孙建云, 沈振国. 镉胁迫对不同甘蓝基因型光合特性和养分吸收的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(11):2605-2610.
- SUN Jian-yun, SHEN Zheng-guo. Effects of Cd stress on photosynthetic characteristics and nutrient uptake of cabbages with different Cd-tolerance[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(11):2605-2610.
- [31] 张自坤, 刘作新, 张 颖, 等. 铜胁迫对嫁接和自根黄瓜幼苗光合作用及营养元素吸收的影响[J]. 中国农业生态学报, 2009, 17(1):135-139.
- ZHANG Zi-kun, LIU Zuo-xing, ZHANG Ying, et al. Effect of Cu stress on photosynthesis and nutrient absorption of grafted and ungrafted cucumber seedling[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(1):135-139.
- [32] Sano H, Youssefian S. Light and nutritional regulation of transcripts encoding a wheat protein kinase homolog is mediated by cytokins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 1994, 91(7):2582-2586.
- [33] Misson J, Raghothama K G, Jain A, et al. A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2005, 102(33):11934-11939.
- [34] Dan H, Yang G, Zheng Z L. A negative regulatory role for auxin in sulfate deficiency response in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 63:221-235.