



硫素对小花南芥同化关键酶活性与铅富集的影响

刘艺瑄, 刘才鑫, 祖艳群, 王磊, 李祖然, 王吉秀

引用本文:

刘艺, 刘才鑫, 祖艳群, 王磊, 李祖然, 王吉秀. 硫素对小花南芥同化关键酶活性与铅富集的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(6): 1319–1328.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0656>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

野生小花南芥体内AsA-GSH循环对土壤Cd、Pb胁迫的响应

刘梅, 李祖然, 张光群, 王吉秀, 祖艳群

农业资源与环境学报. 2021, 38(4): 558–569 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0404>

接种AM真菌对不同盐度土壤中向日葵生长的影响

周昕南, 杨亮, 许静, 王亚男, 杨久扬, 郝利君, 刁风伟, 郭伟

农业资源与环境学报. 2020, 37(5): 744–752 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0184>

不同茶树品种吸收累积镉的差异研究

杨柳, 陈钰佩, 方丽, 石元值

农业资源与环境学报. 2021, 38(3): 401–410 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0336>

硅铁施用对水稻生长及磷吸收的影响

刘煜椿, 李仁英, 谢晓金, 李霖, 徐向华, 张婧, 吴思佳, 简静, 李玉聪

农业资源与环境学报. 2020, 37(4): 511–517 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0145>

三种纳米材料对水稻幼苗生长及根际土壤肥力的影响

尹勇, 刘灵

农业资源与环境学报. 2020, 37(5): 736–743 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0259>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

刘艺瑄, 刘才鑫, 祖艳群, 等. 硫素对小花南芥同化关键酶活性与铅富集的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(6): 1319–1328.

LIU Y X, LIU C X, ZU Y Q, et al. Effects of sulfur on activities of key sulfur-assimilating enzymes and lead enrichment in *Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(6): 1319–1328.

硫素对小花南芥同化关键酶活性与铅富集的影响

刘艺瑄, 刘才鑫, 祖艳群, 王磊, 李祖然, 王吉秀*

(云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

摘要:为从生理学角度研究硫元素施加对小花南芥(*Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch)硫同化关键酶活性及富集铅的影响, 设置铅(Pb^{2+} 1 000 $mg \cdot kg^{-1}$)胁迫下施用不同浓度(0、25、50、100、200、400 $mg \cdot kg^{-1}$)硫处理的盆栽试验, 测定植株体内铅、硫和硫合成物质含量以及硫同化关键酶活性, 分析施硫条件下小花南芥生长、硫同化关键酶活性、铅含量的变化规律以及硫同化关键酶对小花南芥累积铅的影响。结果表明:与对照相比, 硫处理浓度为400 $mg \cdot kg^{-1}$ 时小花南芥地上部和地下部生物量分别显著增加125.80%和71.50%, 在硫处理浓度为50 $mg \cdot kg^{-1}$ 时, 地上部生物量差异不显著, 但总根投影面积、总根表面积和总根体积显著增加了1.2、1.4倍和4.5倍, 小花南芥地上部硫酸化酶(ATPS)、 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -ECS)、半胱氨酸合成酶(OAS-TL)、亚硫酸盐还原酶(SUR)活性分别增加了21.66%、29.80%、15.08%、48.95%, 地下部和地上部的半胱氨酸含量分别增加了18.10%、11.93%; 硫处理浓度为100 $mg \cdot kg^{-1}$ 时, 小花南芥地上部乙酰丝氨酸水解酶(OASS)、螯合肽合成酶(PCSase)、腺苷酰硫酸还原酶(APSR)活性分别显著增加了24.27%、19.29%、36.71%, 地上部的半胱氨酸含量增加了7.96%; 在硫处理浓度为50、100 $mg \cdot kg^{-1}$ 时铅的富集系数大于1。小花南芥地上部铅含量与地上部OAS-TL、 γ -ECS和SUR存在显著正相关性; 小花南芥地下部铅含量与地下部 γ -ECS和APSR存在显著正相关性, 与地下部OAS-TL、半胱氨酸(Cys)和PCSase存在显著负相关性。研究表明, 适当施硫(50~100 $mg \cdot kg^{-1}$)可以促进小花南芥的生长, 改变根系形态, 提高硫同化关键酶活性和含硫化合物的含量, 增强小花南芥对铅的富集和耐受能力。

关键词:铅; 硫素; 小花南芥; 硫同化; 酶活性

中图分类号: X173

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2023)06-1319-10

doi: 10.13254/j.jare.2022.0656

Effects of sulfur on activities of key sulfur-assimilating enzymes and lead enrichment in *Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch

LIU Yixuan, LIU Caixin, ZU Yanqun, WANG Lei, LI Zuran, WANG Jixiu*

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The effects of sulfur nutrients on the activities of key enzymes involved in sulfur assimilation and lead enrichment in *Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch were studied from a physiological perspective. Pot experiments with different concentrations of sulfur (0, 25, 50, 100, 200, 400 $mg \cdot kg^{-1}$) under lead (Pb^{2+} 1 000 $mg \cdot kg^{-1}$) stress were conducted to determine the contents of lead, sulfur, and sulfur synthetic substances in plants, as well as the activity of key enzymes involved in sulfur assimilation. The effects of sulfur application on the growth of *A. alpina* var. *parviflora*, the activities of key sulfur-assimilating enzymes, and the content and accumulation of lead in *A. alpina* var. *parviflora* were analyzed. Compared with those in the control, the aboveground and underground biomasses of *A. alpina* var. *parviflora*, with the 400 $mg \cdot kg^{-1}$ sulfur treatment, were significantly increased by 125.80% and 71.50%, respectively. There was no significant difference in aboveground and underground biomass at a sulfur concentration of 50 $mg \cdot kg^{-1}$, but the total root projected area, total root

收稿日期: 2022-09-09 录用日期: 2022-11-07

作者简介: 刘艺瑄(2001—), 女, 山西运城人, 本科生, 从事土壤重金属污染超富集植物修复研究。E-mail: lyxludan@163.com

*通信作者: 王吉秀 E-mail: 91143330@qq.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(41967049, 41761073, 41867055); 云南省创新创业项目(2021XNKK025)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41967049, 41761073, 41867055); Innovation and Entrepreneurship Project of Yunnan Province(2021XNKK025)

surface area, and total root volume increased significantly by 1.2, 1.4 times and 4.5 times, respectively. When the concentration of sulfur was $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the activities of ATP sulfurylase (ATPS), γ -glutamylcysteine synthetase (γ -ECS), OAS-TL, and sulfite reductase (SUR) in the aboveground parts of *A. alpina* var. *parviflora* were increased by 21.66%, 29.80%, 15.08%, and 48.95%, respectively. Cysteine (Cys) content in underground and aboveground parts increased by 18.10% and 11.93%, respectively. When the concentration of sulfur was $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the activities of O-acetylserine (OASS), phytochelatin synthase (PCSase), and adenosine-5'-phosphosulfate reductase (APSR) in the aboveground part of *A. alpina* var. *parviflora* were significantly increased by 24.27%, 19.29%, and 36.71%, respectively; and the Cys content in the underground part increased by 7.96%. When the sulfur concentration was $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the enrichment coefficient of lead was greater than 1. There was also a significant positive correlation between lead content in *A. alpina* var. *parviflora* and OAS-TL, SUR, and γ -ECS. Further, there was a significant positive correlation between lead content in the underground part of *A. alpina* var. *parviflora* and γ -ECS and APSR, and a significant negative correlation between lead content in the underground part of *A. alpina* var. *parviflora* and OAS-TL, Cys, and PCSase. This study revealed that proper sulfur application ($50\text{--}100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) could promote the growth of *A. alpina* var. *parviflora*, change the root morphology, and increase the activity of key sulfur-assimilating enzymes and the content of sulfur compounds, thus promoting the enrichment of and tolerance to lead in *Arabidopsis florescens*.

Keywords: lead; sulfur; *Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch; sulfur assimilation; enzyme activity

铅(Pb)是一种毒性很强的重金属元素。随着我国工业化和城镇化的高速发展,农田受到不同程度的铅污染,据报道我国27个省的表层土壤铅含量高于全国背景值^[1]。铅污染已成为影响耕地安全和粮食安全的严重问题。铅在土壤中的溶解度小,滞留时间长,是一种不可降解的环境污染物,在表土积累后,影响农作物的产量和质量,并可通过食物链富集进而影响人类的健康^[2]。在铅胁迫下,植物体内酶活性发生改变,影响植物对矿物元素的吸收利用,同时改变土壤中污染元素的迁移转化。

硫是植物生长发育的重要营养物质之一^[3]。近年来研究表明,硫在植物对重金属铅耐受机制中发挥重要作用,与植物对铅胁迫反应机制密切相关。外源硫营养元素可促进超富集植物小花南芥累积铅^[4],使小花南芥体内含硫硫化物含量增加^[5]。硫同化过程与植物响应重金属胁迫有着密切的联系。硫通常以硫酸盐(SO_4^{2-})的形态被植物根部所吸收^[6],植物吸收 SO_4^{2-} 后,通过一系列的代谢同化过程生成半胱氨酸、胱氨酸和甲硫氨酸等^[7],进而生成多种含硫化合物螯合重金属,降低其毒性。在植物响应重金属胁迫的硫同化过程中,硫同化关键酶起着至关重要的作用,但目前硫同化关键酶代谢如何调控小花南芥体内硫化物的合成及其对铅的耐受机制尚不明确。

本研究选取云南会泽铅锌矿区周边超富集植物小花南芥的种子,通过外源添加不同浓度的硫,研究硫营养元素施加对小花南芥富集铅的调控及对硫同化关键酶的影响,旨在揭示硫同化关键酶对小花南芥耐铅胁迫的调控机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物小花南芥(*Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch)属于十字花科南芥属植物。小花南芥种子采自云南会泽铅锌矿区废弃地,试验用土采自云南农业大学后山科研基地。试验地点为云南农业大学后山科研基地,试验期平均气温为 $20 \text{ }^\circ\text{C}$,降水量为 $1\ 031 \text{ mm}$,相对湿度为74%,紫外线强度为3级。试验用土基本理化性质见表1。

1.2 试验设计

盆栽试验于2021年云南农业大学农场温室大棚进行,试验基质土采自后山自然植被下的土壤,自然风干后过 2 mm 筛,每盆装 4 kg 土壤。参考《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准》(GB 15678—2018)中农用地土壤铅污染风险管制值,设置铅胁迫浓度为 $1\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以纯 Pb^{2+} 计),以 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 溶液的形式与土充分混合均匀,平衡期为7 d;土壤与

表1 试验用土基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of the test soil

全氮 Total N/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全磷 Total P/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全钾 Total K/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	碱解氮 Available N/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效磷 Available P/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效钾 Available K/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有机质 Organic matter/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	pH
1.56	0.75	5.60	152.2	1.87	4.21	40.62	6.1

铅均质7 d后,设置不同硫浓度,采用 Na_2SO_4 (分析纯)配制,以 SO_4^{2-} 计,配制浓度分别为0(CK)、25(S25)、50(S50)、100(S100)、200(S200)、400(S400) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,向土壤中加入外源硫溶液,充分混合均匀,均质期为7 d。每个处理3个重复,共计18盆,每盆移栽6株植物,随机排列,培养时间为50 d,培养期间进行常规的浇水管理。移栽培养50 d后,收集植物分地上部、地下部制样备用,收集小花南芥根际土壤,自然风干后过筛备用。

1.3 指标测定

1.3.1 土壤基本理化性质

(1)参照鲍士旦^[8]的测定方法测定全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷、速效钾、有机质、pH。

(2)土壤中铅、硫含量:称取0.1 g风干土样置于50 mL三角瓶中,用适量蒸馏水润湿,加浓硝酸3 mL,封口过夜,低温加热至微沸(140~160 ℃),待棕色氮氧化物基本赶完后,取下冷却。沿壁加入高氯酸5 mL,继续加热,样品呈灰白色糊状,取下冷却。将消化好的溶液过滤,转移到50 mL容量瓶中,用去离子水多次洗涤三角瓶,最后用去离子水定容至50 mL。用火焰原子吸收分光光度计(北京,普析通用TAS-990原子吸收)测定铅含量,采用全谱直读等离子体发射光谱仪(ICAP6300)测定硫含量。

1.3.2 植物生长指标

(1)根系形态:利用数字化扫描仪(STD1600 Epson,美国)扫描每盆6株小花南芥的总根系,利用WinRhizo(Version 4.0B)对根系形态进行分析。

(2)生物量:收获的植株样先用自来水反复冲洗,后用去离子水浸泡10 min,最后再用去离子水洗净,用吸水纸吸干多余水分。将植株地上部和地下部置于105 ℃烘箱中杀青30 min,然后75 ℃烘干至恒质量,称取干质量,计算生物量。

1.3.3 小花南芥地上部和地下部铅含量

(1)称取0.1 g植物干样于消解罐中,加入3 mL硝酸后过夜,第2天加入2 mL 30%过氧化氢,随后将消解罐放入140 ℃烘箱(DHG-9145A)消解4 h,取出冷却至室温。将消化好的溶液过滤,滤液转移到50 mL容量瓶中,用去离子水多次洗涤消解罐壁,最后用去离子水定容到50 mL,测定铅含量。

(2)富集系数=植株地上部铅含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/土壤铅含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

(3)转运系数=植株地上部铅含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/植株地下部铅含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

(4)生物累积量(mg)=植株地上部铅含量($\text{mg}\cdot$

kg^{-1})×植物地上部生物量(kg)+植株地下部铅含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)×植物地下部生物量(kg)。

1.3.4 小花南芥体内硫含量

将烘干的小花南芥的茎叶、根分别粉碎,各称取0.1 g,倒入消煮罐中加入2 mL硝酸,过夜,加入2 mL过氧化氢溶液,将消煮罐放入烘箱,140 ℃加热4 h,进行消化。4 h后,取出消煮罐,冷却至室温。将消化好的溶液过滤,滤液转移到50 mL容量瓶中,用去离子水多次洗涤消煮罐壁,最后用去离子水定容到50 mL,测定硫含量。

1.3.5 小花南芥体内含硫化合物含量及酶活性

测定半胱氨酸(Cys)、乙酰丝氨酸(AS)的含量和硫酸化酶(ATPS)、乙酰丝氨酸水解酶(OASS)、半胱氨酸合成酶(OAS-TL)、 γ 谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -ECS)、螯合肽合成酶(PCSase)、腺苷酰硫酸还原酶(APSR)、亚硫酸盐还原酶(SUR)的活性。

测定方法:称取地上部或地下部0.1 g鲜样于2 mL离心管中,加入提取液,置冰箱冰浴30 min,于高通量组织研磨器(SCIENTZ-48)中研磨成匀浆。置于高速冷冻离心机(HC-3018R)中冷冻离心,取上清液置冰上待测。根据试剂盒说明书(苏州格锐思生物技术有限公司),用紫外可见分光光度计(UV-5800)测定。

1.4 数据分析

试验数据用Excel和SPSS 26软件进行处理和统计分析,用Duncan's新复极差法进行差异显著性检验(Duncan, $P<0.05$)及Pearson相关性分析,用Origin 2018绘图。

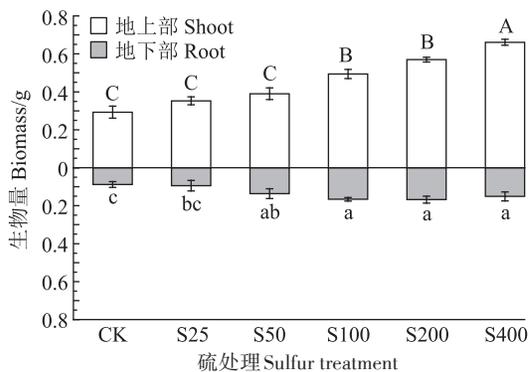
2 结果与分析

2.1 不同硫浓度对铅胁迫下小花南芥生长的影响

由图1可知,不同硫浓度处理下,小花南芥地上部和地下部的生物量均增加。S25、S50、S100、S200、S400处理下,地上部的生物量相比对照组分别增加了20.33%、29.74%、68.66%、94.61%、125.80%;地下部的生物量相比对照组分别增加了7.31%、54.48%、88.61%、90.67%、71.50%。由此得出,外源添加硫增加了小花南芥的生物量。

2.2 不同硫浓度对铅胁迫下小花南芥根系形态的影响

由表2可知,与对照相比,在不同硫浓度处理下小花南芥根系形态发生显著改变。在硫处理浓度为50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,总根投影面积、总根表面积、根平均直径和总根体积分别是对照的2.2、2.4、1.8倍和5.5倍。总的来说,外源施加硫显著改变了小花南芥根系形



不同大写字母表示地上部处理间显著差异 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示地下部处理间显著差异 ($P < 0.05$). 下同。

Different capital letters indicate significant differences among aboveground treatments ($P < 0.05$), and different small letters indicate significant differences among underground treatments ($P < 0.05$). The same below.

图1 不同硫浓度对小花南芥生物量的影响

Figure 1 Effects of different sulfur concentrations on biomass of *A. alpina*

态,促进了小花南芥根系的生长。

2.3 不同硫浓度对小花南芥富集铅的影响

2.3.1 对小花南芥铅含量的影响

图2为不同硫浓度下小花南芥地上部和地下部铅含量的变化。随着硫浓度的增加,小花南芥地上部铅含量呈现先上升再下降的趋势,在S50处理下,铅含量达到最高值,为 $350.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,较对照显著增加了41.45%,而在S400处理下,铅含量降低至 $220.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,较对照降低了10.90%;随着硫浓度的增加,小花南芥地下部铅含量呈现先下降再上升的趋势,在S400处理下铅含量达到最高值,为 $911.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,较对照显著增加了40.54%,而在S50处理下,铅含量降低至 $557.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,较对照显著降低了14.03%。总的来说,低浓度的硫抑制小花南芥地下部对铅的吸收,高浓度的硫促进小花南芥地下部对铅的吸收。

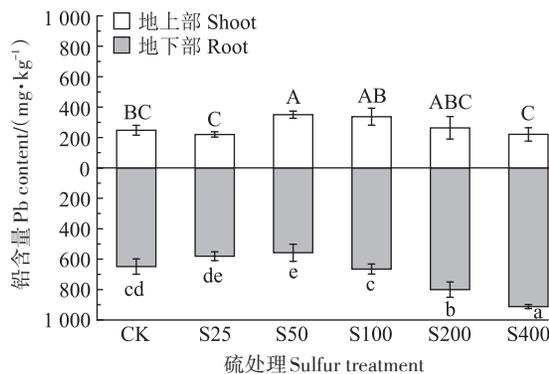


图2 不同硫浓度对小花南芥体内铅含量的影响

Figure 2 Effects of different sulfur concentrations on lead content in *A. alpina*

2.3.2 对小花南芥吸收累积铅特征的影响

由表3可知,不同硫浓度对小花南芥吸收铅的特征有不同的影响。S25、S50、S100、S200、S400处理下,小花南芥的富集系数均比对照组高,分别是对照组的1.17、3.76、4.17、1.52、1.38倍;小花南芥的转运系数分别是对照组的1.00、1.66、1.34倍和87%、63%。在S50和S100处理下,小花南芥的富集系数大于1,转运系数也处于较高水平,而高浓度的硫反而抑制了小花南芥对铅的转运,S200和S400处理下小花南芥的转运系数与对照组相比分别下降了13.2%和36.8%。由此说明,外源添加硫促进小花南芥对铅的富集;低浓度的硫促进小花南芥对铅的转运,高浓度的硫抑制小花南芥对铅的转运。

2.4 不同硫浓度对小花南芥硫同化关键酶活性的影响

2.4.1 对小花南芥体内ATPS和OASS活性的影响

ATPS的活性如图3a所示,外源添加硫增加了小花南芥地上部和地下部ATPS的活性。地上部整体呈先上升后下降趋势,且处理组间存在显著差异,在S50处理下,ATPS活性达到最高,为 $549.51 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$,较

表2 不同硫浓度对小花南芥根系形态的影响

Table 2 Effects of different sulfur concentrations on root morphology of *A. alpina*

硫处理 Sulfur treatment	总根长 Total root length	总根投影面积 Total root projected area	总根表面积 Total root surface area	根平均直径 Average root diameter	总根体积 Total root volume
CK	191.94±19.60c	6.45±0.73c	19.59±1.74d	0.34±0.03c	0.17±0.03d
S25	217.18±15.12bc	8.68±0.94bc	28.12±1.71c	0.40±0.02c	0.31±0.04c
S50	235.23±58.68bc	14.30±2.05a	46.55±4.25a	0.61±0.16b	0.94±0.10a
S100	240.96±25.09bc	10.68±0.70b	33.55±2.21b	0.76±0.07a	0.55±0.09b
S200	299.34±14.89b	8.49±2.09bc	30.01±0.84bc	0.32±0.03c	0.29±0.04cd
S400	404.98±82.31a	15.26±2.72a	34.38±2.02b	0.34±0.07c	0.30±0.08cd

注:表中数值为平均值±标准差,同列不同字母表示不同硫处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Values in the table are Means±SD. Different letters in the same column indicate significant differences among different sulfur treatments ($P < 0.05$).

表3 不同硫浓度对小花南芥吸收铅特征的影响

Table 3 Effects of sulfur mediated on Pb absorption characteristics of *A. alpina*

硫处理 Sulfur treatment	富集系数 Bioconcentration factor	转运系数 Translocation factor	生物累积量 Bioaccumulation/ mg
CK	0.29	0.38	0.13
S25	0.34	0.38	0.13
S50	1.09	0.63	0.18
S100	1.21	0.51	0.28
S200	0.44	0.33	0.23
S400	0.40	0.24	0.28

对照显著增加 21.66%;随着硫浓度的增加,地下部 ATPS 活性呈上升趋势,在 S400 处理下达到最高,为 649.79 U·L⁻¹。

OASS 的活性如图 3b 所示,外源添加硫增加了小花南芥地上部和地下部 OASS 的活性。地上部和地下部均呈现先上升再下降的趋势,在 S100 处理下,地上部 OASS 活性达到最高,为 407.19 U·L⁻¹,较对照显著增加 24.27%;在 S200 处理下,地下部 OASS 活性达到最高,为 422.07 U·L⁻¹。与 S50 相比,S100 处理下地上部 OASS 活性显著增加了 22.38%,地下部增加了 12.52%。

2.4.2 对小花南芥体内 γ -ECS 和 OAS-TL 活性的影响

γ -ECS 的活性如图 4a 所示。地上部呈现先上升再下降的趋势,而地下部呈现先下降再上升的趋势。在 S50 处理下,地上部 γ -ECS 的活性达到最高,为 348.02 U·L⁻¹,较对照显著增加了 29.80%,而地下部 γ -ECS 的活性达到最低,为 210.25 U·L⁻¹,较对照显著降低了 28.45%。

OAS-TL 的活性如图 4b 所示。外源添加硫增加了小花南芥地上部和地下部 OAS-TL 的活性。地上部呈现先上升再下降的趋势,在 S50 处理下,OAS-TL 活性较对照增加 15.08%,在 S100 处理时下 OAS-TL 的活性达到最高,为 445.29 U·L⁻¹;地下部在 S25 处理下,OAS-TL 的活性达到最高,为 438.26 U·L⁻¹,较对照显著升高了 31.02%,随后随着硫浓度的升高,OAS-TL 的活性逐渐降低。

2.4.3 对小花南芥体内 PCSase、APSR 和 SUR 活性的影响

PCSase 的活性如图 5a 所示。随着硫浓度的增加,地上部呈现上升趋势,而地下部呈现下降趋势。在 S100 处理下,地上部 PCSase 活性较对照显著增加 19.29%,在 S400 处理下,PCSase 的活性达到最高,为

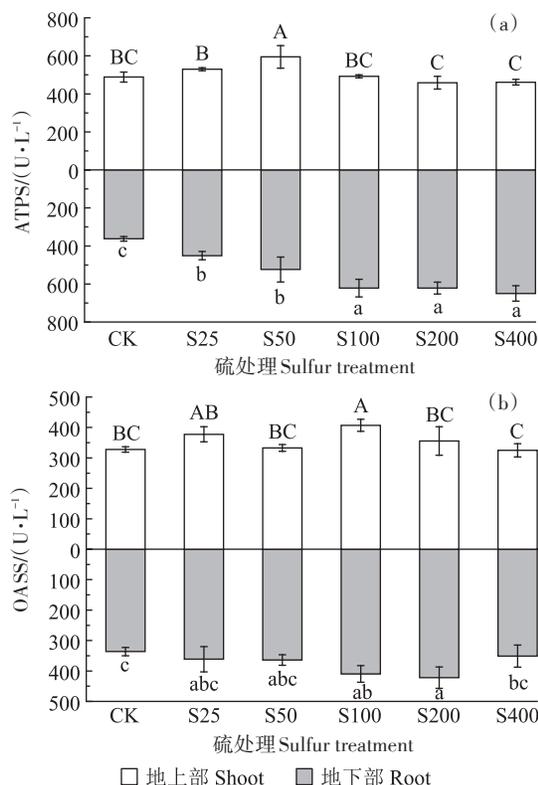


图3 不同硫浓度对小花南芥体内 ATPS 和 OASS 活性的影响
Figure 3 Effects of different sulfur concentrations on ATPS and OASS activities in *A. alpina*

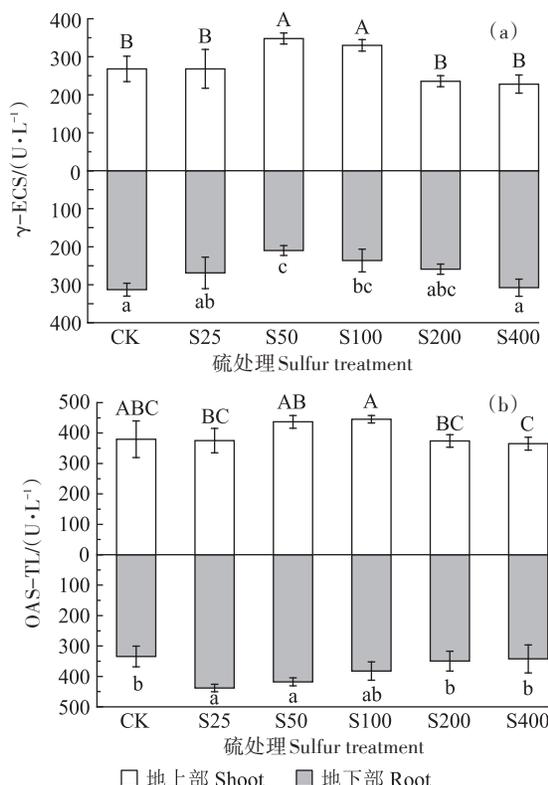


图4 不同硫浓度对小花南芥体内 γ -ECS 和 OAS-TL 活性的影响
Figure 4 Effects of different sulfur concentrations on γ -ECS and OAS-TL activities in *A. alpina*

852.89 U·L⁻¹,较对照显著增加了29.54%;地下部在S400处理下,PCsase的活性降至最低,为536.54 U·L⁻¹,较对照显著降低了33.89%。地上部PCsase的活性均比地下部高。

APSR的活性如图5b所示。外源添加硫增加了小花南芥地上部和地下部APSR的活性,地上部和地下部整体呈现上升趋势,在S100处理下,地上部APSR活性较对照显著提升36.71%,在S200处理下,地上部APSR的活性达到最高,为166.16 U·L⁻¹,较对照显著增加了43.18%;在S400处理下,地下部APSR

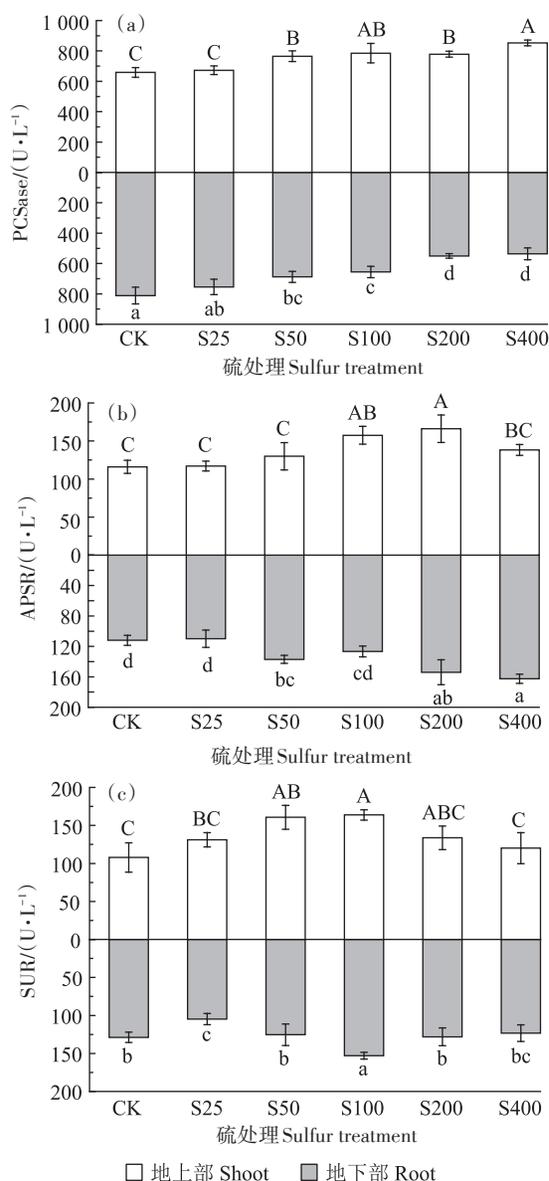


图5 不同硫浓度对小花南芥体内PCSase、APSR和SUR活性的影响

Figure 5 Effects of different sulfur concentrations on PCSase, APSR and SUR activities in *A. alpina*

活性达到最高,为162.59 U·L⁻¹,较对照显著增加了45.18%。

SUR的活性如图5c所示。地上部和地下部整体均呈现先上升再下降的趋势。与不施加硫相比,施硫处理地上部SUR的活性均有提高,在S50处理下SUR活性提高48.95%,且在S100处理时SUR的活性达到最高,为163.86 U·L⁻¹,较对照显著增加了51.89%,而地下部分S25、S50、S200、S400处理SUR的活性均受到抑制,仅S100处理SUR的活性有所提高。

2.5 不同硫浓度对小花南芥体内硫和硫合成物质含量的影响

由图6可知,在不同硫浓度处理下,小花南芥地上部和地下部的硫含量均呈现先上升后下降的趋势。地上部S25、S50、S400处理小花南芥体内硫含量与对照无显著差异,而S100处理下,小花南芥体内硫含量与对照相比显著增加了49%;地下部S25、S200、S400处理小花南芥体内硫含量与对照无显著差异,在S100处理时达到最大,为29.17 mg·L⁻¹。

硫素对小花南芥体内硫合成物质半胱氨酸(Cys)和乙酰丝氨酸(AS)含量的影响见图7。小花南芥地上部Cys的含量整体随着硫浓度的增加而增加,在S50和S100处理下,Cys含量较对照分别增加18.10%和7.96%。在S400处理下达到最高,为89.09 ng·L⁻¹;小花南芥地下部Cys的含量随着硫浓度的增加呈现先增加后降低的趋势,在S50处理时达到最高,为89.49 ng·L⁻¹,较对照增加11.93%,而在S400处理时降至最低,为66.02 ng·L⁻¹。不同硫浓度下,小花南芥地上部和地下部的AS含量均随着硫浓度的增加先降低后增加,地上部均比对照组的含量低,地下部在S200

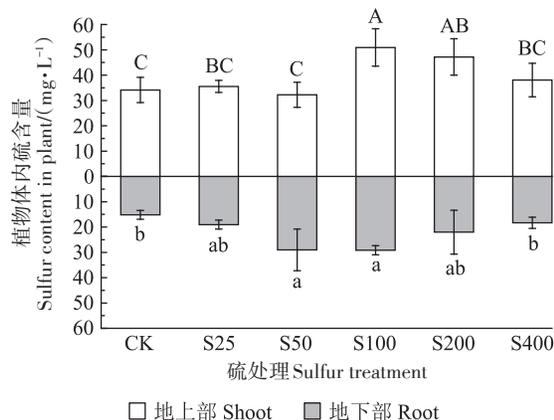


图6 不同硫浓度对小花南芥体内硫含量的影响

Figure 6 Effects of different sulfur concentrations on sulfur contents in *A. alpina*

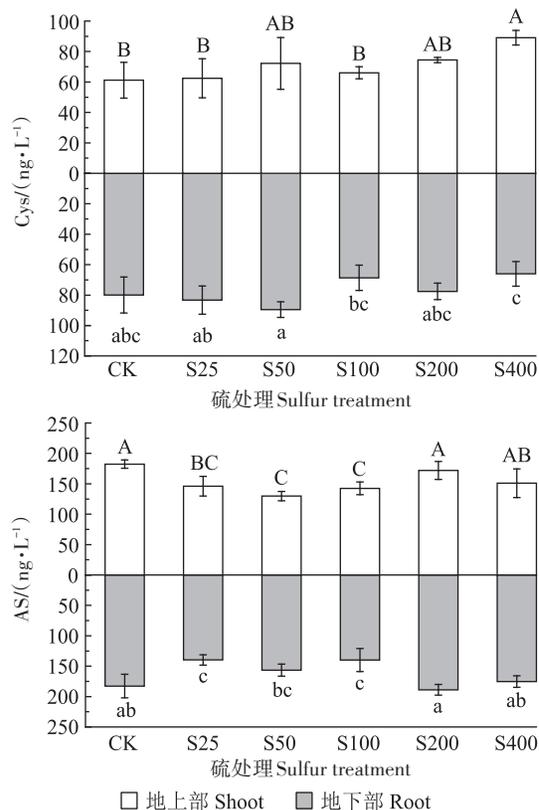


图7 不同硫浓度对小花南芥体内Cys和AS含量的影响

Figure 7 Effects of different sulfur concentrations on the contents of Cys and AS in *A. alpina*

处理时达到最高,为188.85 ng·L⁻¹。

2.6 不同硫浓度下小花南芥关键同化酶活性与铅的相关性

2.6.1 地上部铅含量与含硫化合物及酶活性的相关性

由表4可知,小花南芥地上部铅含量与地上部OAS-TL、SUR具有显著正相关性($P<0.05$),与地上部

γ -ECS具有极显著正相关性($P<0.01$)。

2.6.2 地下部铅含量与含硫化合物及酶活性的相关性

由表5可知,小花南芥地下部铅含量与地下部OAS-TL呈显著负相关,与地下部PCSase、Cys呈极显著负相关,与地下 γ -ECS呈显著正相关,与APSR呈极显著正相关。

3 讨论

3.1 施硫对小花南芥生长及铅富集特征的影响

硫是植物生长的必需元素,参与植物体内许多重要的生理过程^[9],在植物的生长发育和逆境反应过程中发挥重要的作用^[10]。在重金属胁迫下,外源施硫可以改善植物的生长、生理代谢过程^[5]。梁泰帅等^[11]发现外施硫50 mg·kg⁻¹可促进小白菜的生长和光合作用。外源施加硫促进不结球白菜、蓖麻、玉米、水稻等生物量的增加^[12-15]。本试验中,在铅胁迫下,不同浓度的硫促进小花南芥地上部和地下部的生物量增加。S50处理总根投影面积、总根表面积、根平均直径和总根体积分别是对照的2.2、2.4、1.8倍和5.5倍,显著改变了小花南芥根系形态,促进小花南芥的生长。

不同硫浓度处理下小花南芥的富集系数均比未添加硫处理高,与王吉秀等^[4]的研究结果一致。这可能是由于外源施加硫改变了土壤的理化性质,造成土壤pH下降,土壤重金属被活化,进而增加了土壤中重金属的生物有效性^[16],促进超富集植物对重金属的吸收。S50和S100处理下小花南芥转运系数是对照组的1.66倍和1.34倍,地上部铅含量显著提高,地下部铅含量显著下降;S400处理小花南芥转运系数是对照组的63%,地上部铅含量降至最低值,地下部铅含量达

表4 小花南芥地上部铅含量与含硫化合物及酶活性的相关性

Table 4 Correlations between Pb content and sulfur compounds and enzyme activities in shoots of *A. alpina*

指标 Index	Pb	OAS-TL	ATPS	OASS	γ -ECS	PCSase	APSR	SUR	AS	Cys
Pb	1									
OAS-TL	0.574*	1								
ATPS	0.102	-0.128	1							
OASS	0.346	0.215	-0.158	1						
γ -ECS	0.640**	0.590**	0.033	0.374	1					
PCSase	0.094	0.042	0.269	-0.113	-0.121	1				
APSR	0.223	0.285	0.170	0.184	-0.072	0.480*	1			
SUR	0.521*	0.425	0.096	0.304	0.599**	0.329	0.319	1		
AS	-0.303	-0.361	-0.295	-0.232	-0.495*	-0.290	0.023	-0.598**	1	
Cys	-0.065	-0.132	0.214	-0.353	-0.464	0.639**	0.205	0.061	-0.098	1

注:*表示显著相关($P<0.05$),**表示极显著相关($P<0.01$),下同。

Note:* indicates significant correlation ($P<0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$). The same below.

表5 小花南芥地下部铅含量与地下部含硫化合物及酶活性的相关性

Table 5 Correlations between Pb content and sulfur compounds and enzyme activities in roots of *A. alpina*

指标 Index	Pb	OAS-TL	ATPS	OASS	γ -ECS	PCSase	APSR	SUR	AS	Cys
Pb	1									
OAS-TL	-0.583*	1								
ATPS	-0.119	-0.205	1							
OASS	0.152	-0.057	-0.515*	1						
γ -ECS	0.523*	-0.471*	0.437	-0.271	1					
PCSase	-0.699**	0.311	0.636**	-0.393	-0.045	1				
APSR	0.709**	-0.260	-0.491*	0.244	0.065	-0.822**	1			
SUR	0.147	-0.221	-0.198	0.207	-0.262	-0.177	0.138	1		
AS	0.452	-0.550*	0.290	-0.123	0.318	-0.196	0.450	-0.051	1	
Cys	-0.605**	0.537*	0.330	-0.230	-0.262	0.402	-0.349	-0.277	-0.083	1

到最高值,该趋势与牟凤丽等^[5]的研究结果一致。这可能是由于高浓度的硫处理中小花南芥地下部含硫化合物合成较多,使得更多的铅被固定在地下部,降低了向地上部的转移,从而减少了铅的转运。这表明铅胁迫下低浓度的硫促进小花南芥对铅的转运,而高浓度的硫明显抑制了小花南芥对铅的转运。

3.2 施硫对含硫化合物合成的影响

Cys是植物硫同化过程的第一个有机产物^[17],是硫代谢的中心产物。GSH在缓解金属毒害、增加植物对金属的耐受性方面起着重要的作用^[17]。外源添加硫增加了植物体内Cys、GSH等含硫氨基酸、多肽的生物合成量,提高了植物对镉的耐性^[10]。在硫供应充足时,施硫会促进半胱氨酸的生成,不会使AS发生积累^[18]。牟凤丽等^[5]的研究表明在铅胁迫下,施硫增加了小花南芥体内Cys的含量。本研究中,在铅胁迫下外源添加硫增加了小花南芥体内Cys的含量,与对照组相比,施硫条件下小花南芥地上部Cys的增加量比地下部要多,但地下部Cys含量整体上比地上部高,且小花南芥地下部铅含量与地下部Cys的含量具有极显著负相关性,也解释了前文提到的高浓度的硫明显抑制了小花南芥对铅的转运。

AS是合成Cys的重要前体,S50和S100处理下,外源添加硫显著降低了小花南芥体内AS的含量。本试验处理施硫增加了Cys的含量,降低了AS的含量,这可能是由于施硫给植物体内提供了充足的硫元素,使OASS和OAS-TL活性增加,从而增加了AS的含量,进一步使更多的AS合成了Cys,最终出现了Cys含量增加而AS含量降低的现象。由此推测,铅胁迫下施硫增加了小花南芥体内Cys的含量,从而进一步增加了GSH的合成,GSH通过自身的氧化作用或者在谷胱甘

肽转移酶作用下使GSH与铅结合并转移至液泡,减少铅向地上部的转运,从而降低了铅对小花南芥的毒害作用,增加了小花南芥地下部对铅的吸收。

3.3 施硫对硫同化关键酶合成含硫化合物的影响

硫同化关键酶在植物合成含硫化合物的过程中起着至关重要的作用。ATPS和OASS作为植物硫素同化的关键酶,分别参与硫酸盐的活化和半胱氨酸的合成^[19]。OAS-TL是合成Cys过程中最后一步的硫同化关键酶。本研究显示,外源添加硫均增加了小花南芥地上部和地下部ATPS、OASS、OAS-TL、APSR的活性,而且地上部铅含量与地上部OAS-TL活性有显著正相关性,地下部铅含量与地下部OAS-TL活性有显著负相关性,地下部的铅含量与地下部APSR的活性有极显著正相关性。孔灵君等^[20]发现,在大葱生长的中后期适量提高供硫水平显著增强了OASS的活性;梁泰帅^[21]发现施硫提高了镉胁迫下小白菜体内ATPS和OAS-TL酶活性,与本试验结果一致。这可能是由于施硫增加了ATPS、OASS、APSR的活性,促进植物体内硫素的同化,APSR催化APS生成 SO_3^{2-} ,进而促使合成更多的Cys的重要前体 S^{2-} 。同时OAS-TL活性的增加,使游离的OAS-TL催化生成了更多的Cys,在这个过程中利用了累积的AS作为底物,降低了AS的水平,促进Cys的形成,与前文提到的铅胁迫下施硫导致AS含量下降、Cys含量增加的结果相互印证。

γ -ECS是合成GSH的限速酶之一。GSH在缓解金属毒害、增加植物对金属的耐受性方面起着重要的作用^[17]。在GSH代谢过程中,由OAS-TL产生的Cys必须经过 γ -ECS催化形成谷氨酰半胱氨酸,进而在谷胱甘肽合成酶作用下形成GSH,同时谷氨酰半胱氨

酸的表达量又会反向调节 γ -ECS活性^[21]。S50和S100处理增加了地上部 γ -ECS的活性。相关性分析表明,地上部铅含量与地上部 γ -ECS活性有极显著正相关性。王世华等^[22]在针对水稻的研究中也发现,Cd胁迫下,水稻地上部的 γ -ECS合成酶表达量有所提高,从而使地上部GSH含量高于对照组。由此推测,铅胁迫下低浓度的硫增加了 γ -ECS的活性,从而促进GSH的产生,增强小花南芥对铅的耐受能力,缓解铅引起的氧化胁迫。

在重金属胁迫下,植物会通过增强硫同化过程应对重金属引起的胁迫效应^[17]。孙惠莉等^[23]的研究表明,镉硫交互处理明显增加了小白菜幼苗体内非蛋白巯基、谷胱甘肽和络合素的含量以及坏血酸-谷胱甘肽循环关键酶的活性,从而提高植株对镉胁迫的耐受性。适量的硫供给可促进植物生长发育,增强植物耐受生物和非生物胁迫的能力^[24]。本研究表明,在铅胁迫下,外源添加硫增加了硫同化关键酶的活性,进而促进了含硫化合物的合成,增强了小花南芥对铅的富集和耐受能力。

4 结论

(1)外源施加硫浓度50~100 mg·kg⁻¹,显著提高了小花南芥地下部的生物量,改变了小花南芥根系形态特征。

(2)适量施加硫能够改变小花南芥对铅的累积特征,低浓度硫促进小花南芥对铅的富集,而高浓度硫抑制了小花南芥对铅的转运。

(3)外源施加硫浓度50~100 mg·kg⁻¹,增加了硫关键同化酶的活性,进而促进了含硫化合物的合成。

总而言之,适当施硫促进小花南芥的生长,提高硫同化关键酶活性和含硫化合物含量,从而对小花南芥富集铅有促进作用,同时增强了小花南芥对铅胁迫的耐性,提高了超富集植物小花南芥修复铅污染农田的能力。

参考文献:

[1] 肖龙恒,唐续龙,卢光华,等. 重毒性铅污染土壤清洁高效修复研究进展[J]. 工程科学学报, 2022, 44(2): 289-304. XIAO L H, TANG X L, LU G H, et al. Research progress in cleaning and efficient remediation of heavy, toxic, lead-contaminated soil[J]. *Chinese Journal of Engineering*, 2022, 44(2): 289-304.

[2] 王英辉,陈学军,祁士华. 铅污染土壤的植物修复治理技术[J]. 土壤通报, 2007(4): 790-794. WANG Y H, CHEN X J, QI S H. Phytoremediation techniques for lead contaminated soil[J]. *Chinese Journal of*

Soil Science, 2007(4): 790-794.

[3] 李会和,杨肖娥. 硫对超积累东南景天镉累积、亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(2): 395-402. LI H H, YANG X E. Effects of sulfur on accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in hyperaccumulator: *Sedum alfredii* Hance[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2009, 15(2): 395-402.

[4] 王吉秀,太光聪,祖艳群,等. 硫营养对小花南芥(*Arabidopsis thaliana* var. *parviflora* Franch) 累积铅锌的影响研究[J]. 农业环境科学学报. 2011, 30(6): 1064-1069. WANG J X, TAI G C, ZU Y Q, et al. Effects of sulfur application on growth and lead and zinc accumulation contents in *Arabidopsis thaliana* var. *parviflora* Franch[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(6): 1064-1069.

[5] 牟凤利,杨京民,刘翠,等. 硫素对小花南芥体内含硫化合物与铅累积特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(9): 1851-1859. MOU F L, YANG J M, LIU C, et al. Effects of sulfur on the characteristics of sulfur-containing compounds and Pb accumulation in *Arabidopsis thaliana* var. *parviflora* Franch[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(9): 1851-1859.

[6] 张基茂,黄运湘. 硫对水稻镉吸收的影响机理[J]. 作物研究, 2017, 31(1): 82-87. ZHANG J M, HUANG Y X. Effect of sulfur on cadmium absorption of rice[J]. *Crop Research*, 2017, 31(1): 82-87.

[7] 张雯. 硫硒交互对水稻幼苗镉累积和毒害的影响机制研究[D]. 上海:华东理工大学, 2014. ZHANG W. Influence mechanism of sulfur and selenium interaction on cadmium accumulation and toxicity in rice seedling[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2014.

[8] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 三版. 北京:中国农业出版社, 2000. BAO S D. Agricultural soil analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000.

[9] ASTOLFI S, ZUCHI S, PASSERA C. Effect of cadmium on H⁺ ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from roots of different S-supplied maize (*Zea mays* L.) plants[J]. *Plant Science*, 2005, 169: 361-368.

[10] 王云,张海军,唐为忠,等. 硫对镉胁迫下小麦幼苗生长和一些生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1029-1032. WANG Y, ZHANG H J, TANG W Z, et al. Effect of sulfur on plant growth and some physiological characteristics of wheat seedlings under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3): 1029-1032.

[11] 梁泰帅,刘昌欣,康靖全,等. 硫对镉胁迫下小白菜镉富集、光合速率等生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(8): 1455-1463. LIANG T S, LIU C X, KANG J Q, et al. Effects of sulfur on cadmium accumulation, photosynthesis and some other physiological characteristics of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) under cadmium stresses[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(8): 1455-1463.

[12] 徐瑶,牟建梅,张国芹,等. 施硫对不结球白菜硝酸盐累积及氮硫同化关键基因表达的影响[J]. 中国农业科学, 2016, 49(11): 2222-2233. XU Y, MOU J M, ZHANG G Q, et al. Effect of sulphur availability on nitrate accumulation and expression of nitrogen and sulphur

- assimilation related genes in non-heading Chinese cabbage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(11):2222-2233.
- [13] 李君, 潘新星, 王明新, 等. 外源硫对蓖麻镉胁迫与积累的调控作用[J]. 环境化学, 2015, 34(5):1014-1016. LI J, PAN X X, WANG M X, et al. Regulation of exogenous sulfur on cadmium stress and accumulation in casto[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(5):1014-1016.
- [14] 许洁, 曲东, 周莉娜. 硫营养对锌和干旱胁迫下玉米叶片中叶绿素含量的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008(2):33-37. XU J, QU D, ZHOU L N. Effects of sulfur nutrition on the chlorophyll content of maize leaf under zinc and drought stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2008(2):33-37.
- [15] WU Z Y, ZHANG C H, YAN J L, et al. Effects of sulfur supply and hydrogen peroxide pretreatment on the responses by rice under cadmium stress[J]. *Plant Growth Regulation*, 2015, 77(3):299-306.
- [16] SUN L, ZHENG C, YANG J, et al. Impact of sulfur(S) fertilization in paddy soils on copper (Cu) accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) plants under flooding conditions[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2014, 52:31-39.
- [17] 马超峰. 硫素在杨树响应重金属镉和铅胁迫中的作用机理研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2017. MA C F. A Study on the role of sulfur on responses of poplars to cadmium and lead[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017.
- [18] HAWKESFORD M J, KOK L J D. Managing sulphur metabolism in plants[J]. *Plant Cell & Environment*, 2010, 29(3):382-395.
- [19] SAITO K. Sulfur assimilatory metabolism the long and smelling road [J]. *Plant Physiology*, 2002, 136:2443-2450.
- [20] 孔灵君, 徐坤, 张永征, 等. 硫对大葱生长及氮硫同化关键酶活性的影响[J]. 园艺学报, 2013, 40(12):2505-2512. KONG L J, XU K, ZHANG Y Z, et al. Effects of sulfur on growth and key enzyme activities involved in nitrogen and sulfur assimilation in Chinese spring onion[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(12):2505-2512.
- [21] 梁泰帅. 镉硫交互对小白菜镉吸收转运及谷胱甘肽代谢关键酶活性的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015. LIANG T S. Effects of sulfur and cadmium interaction on uptake and translocation of cadmium and glutathione-related enzymes in *Brassica chinensis* L. [D]. Yangling:Northwest A&F University, 2015.
- [22] 王世华, 高双成, 胥华伟, 等. 纳米对Cd胁迫下水稻幼苗 γ -ECS基因表达的影响[J]. 西南农业学报, 2013, 26(3):850-853. WANG S H, GAO S C, XU H W, et al. Effects of exogenous nanometer silicon on expression of γ -ECS gene in rice seedlings under Cd stress[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 26(3):850-853.
- [23] 孙惠莉, 吕金印, 贾少磊. 硫对镉胁迫下小白菜叶片AsA-GSH循环和植物络合素含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(7):1294-1301. SUN H L, LÜ J Y, JIA S L. Effects of sulfur on ascorbate-glutathione cycle and the content of phytochelatin in the leaves of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(7):1294-1301.
- [24] 黄丽雅, 李方剑, 张亚楠, 等. 植物响应低硫胁迫的分子生物学机制研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28(4):732-753. HUANG L Y, LI F J, ZHANG Y N, et al. Advances on molecular mechanisms of plants in response to low sulfur stress[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(4):732-753.