

干旱胁迫下硫对小麦叶片 GSH 含量及 GSH—PX 活性的影响

邱 睿¹, 王 兆¹, 王保莉¹, 曲 东²

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 生物体内的谷胱甘肽对消除逆境产生的活性氧具有重要的作用。无机硫营养吸收与体内有机硫的转化有着密切相关, 研究干旱胁迫下硫营养与谷胱甘肽(GSH)含量及谷胱甘肽过氧化酶(GSH—PX)活性的关系, 对揭示硫素的抗逆作用机理具有重要的理论和实际意义。本研究以高水肥型小麦品种郑引 1 号和抗旱型品种陕合 6 号为供试材料, 分别用 Hoagland 全营养液和缺硫营养液进行溶液培养试验, 探讨了模拟干旱胁迫过程下小麦苗期功能叶片中 GSH 含量和 GSH—PX 活性的变化。结果表明: 陕合 6 号的 GSH 含量显著高于郑引 1 号; 水分胁迫下, 郑引 1 号中供硫处理的 GSH 含量上升迅速, 24 h、48 h 及 72 h 分别比供水处理增加了 26.4%、33.5% 和 56.6%, 而缺硫处理则分别是供水处理的 93.2%、95.9% 和 74.5%; 陕合 6 号在水分胁迫的 72 h 内供硫处理的 GSH 含量变化不明显, 分别为供水处理 98.3%~106.1%, 而缺硫处理的 GSH 含量有明显的增加, 分别比供水处理增加了 13.1%、40.2% 和 45.9%。郑引 1 号的 GSH 含量受水分胁迫和硫营养供给状况的影响显著, 而陕合 6 号的 GSH 含量仅在缺硫情况下对水分胁迫敏感。水分胁迫初期(24 h)可诱导 GSH—PX 活性增高, 郑引 1 号供硫处理较供水处理增加了 23.9%, 而缺硫处理仅增加了 7.4%; 陕合 6 号品种的供硫处理和缺硫处理分别较供水处理增加了 24.5% 和 16.8%。随着干旱胁迫时间的延长(48~72 h), GSH—PX 活性均呈降低趋势, 但供硫处理的 GSH—PX 活性始终高于缺硫处理。郑引 1 号高水肥型品种的 GSH—PX 活性较低, 在缺硫环境下受水分胁迫的诱导不敏感; 而陕合 6 号抗旱型品种的 GSH—PX 活性整体上较高, 并且对水分胁迫的响应比较敏感。

关键词: 硫; 干旱胁迫; 谷胱甘肽; 谷胱甘肽过氧化酶
中图分类号: S311 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2009)02-0148-05

硫是作物生长发育所必需的矿质营养元素。植物根系吸收矿质硫营养后, 首先被同化为半胱氨酸, 再进一步合成蛋白质等各种必要的有机硫化合物, 参与植物生长过程中的新陈代谢活动^[1~3]。研究表明, 施用硫肥在增强植株体内可溶性氮、硫、葡萄糖、甲硫氨酸和胱氨酸含量的同时, 提高了植物的抗逆性^[4]。通过作物硫营养与干旱胁迫关系的研究表明, 干旱可明显导致玉米叶绿素含量的降低, 但增加营养液中硫浓度, 对逆境导致的叶绿素分解有明显的抑制作用^[5]; 在旱后复水过程中硫营养可明显促进叶绿素含量的恢复^[6]。干旱胁迫可导致叶片中 MDA 含量增加, 但有硫处理的玉米叶片 MDA 含量显著低于无硫处理, 表明硫营养能减轻干旱造成的膜伤害^[7]。本文拟通过室内模拟试验, 探讨干旱胁迫下硫营养与不同抗旱性品种小麦叶片 GSH 含量和 GSH—PX 活性变化的关系, 以期说明环境硫营养在植物体内有机硫转化中的作用及抵御环境胁迫的生理生化机制, 为认识硫素的植物营养机理

提供必要的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试作物选用郑引 1 号和陕合 6 号小麦品种。郑引 1 号属于高水肥型, 而陕合 6 号为抗旱型品种^[8]。

1.2 试验方法

采用光照培养箱控制条件的水培试验方法, 光照强度为 3 000 Lex, 每天控制 12 h 光照, 昼夜温度控制分别为 28℃ 和 15℃。经选种、表面消毒及萌发后移入体积为 30 cm×20 cm×10 cm 的聚乙烯塑料盆钵中, 每盆定植 40 株。每天定时通气 30 min, 每 3 d 更换营养液。分别设置缺硫(采用 Hoagland 缺硫营养液, 以—S 表示)和正常供硫(Hagland 全营养液, 以+S 表示)两个硫水平^[9]。小麦生长到 3 叶期后, 用含 PEG 6000 的 Hoagland 营养液模拟干旱胁迫, 水分胁迫强度为—0.3 MPa(用 D 表示), 在持续

胁迫 72 h 后恢复水分供应。以正常供水处理为对照(用 H 表示)。间隔 24 h 采样,分别测定小麦功能叶片中 GSH 含量及 GSH-PX 活性,每个样品设置 3 个重复。

1.3 测定方法

GSH 含量和 GSH-PX 活性测定采用“南京建成生物工程研究所”提供的试剂盒。测定原理简述如下:还原性 GSH 和二硫代二硝基苯甲酸作用可生成 5-硫代二硝基苯甲酸阴离子,并呈现较稳定的黄色,在波长 412nm 处测其吸光度值,可计算出 GSH 的浓度。GSH-PX 可以促进过氧化氢(H₂O₂)与还原型谷胱甘肽(GSH)反应生成 H₂O 及氧化型谷胱甘肽(GSSG),测定酶促反应中还原型谷胱甘肽的消耗,并可求出酶的活力。GSH-PX 的活力以催化 GSH 的反应速度来表示。

酶液制备:称取小麦叶片 1.0~1.5 g(鲜样),置于研钵中,加 5.0 mL pH7.8 磷酸缓冲液,冰浴下快速研磨,过滤,在 12 000 rpm 下离心 10 min,上清液备用。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对小麦叶片中谷胱甘肽含量的影响

在控制供硫、无硫培养液及干旱和复水过程中,

郑引 1 号和陕合 6 号小麦叶片中 GSH 含量变化如图 1 和图 2 所示。正常供水条件下,郑引 1 号和陕合 6 号的 GSH 含量在 96 h 处理中基本保持稳定,硫营养对 GSH 含量的影响并不明显,在郑引 1 号中缺硫处理(-S-H)较供硫处理(+S-H)略有增加,而陕合 6 号则略有减少。水分胁迫环境下,郑引 1 号中供硫处理(+S-D)的 GSH 含量上升迅速,24 h、48 h 及 72 h 分别比 +S-H 处理增加了 26.4%、33.5%和 56.6%,复水 24 h 后 GSH 含量可明显降低,但仍然比 +S-H 处理高出 23.4%;-S-D 处理在水分胁迫的 72 h 内 GSH 含量分别是 -S-H 处理的 93.2%、95.9%和 74.5%,复水 24 h 后 GSH 含量可有一定的恢复,达到 -S-H 处理的 95.4%。对陕合 6 号来说,在水分胁迫的 72 h 内 +S-D 处理的 GSH 含量变化不明显,分别为 +S-H 处理 98.3%~106.1%;-S-D 处理在水分胁迫的 72 h 内 GSH 含量有明显的增加,分别比 -S-H 处理增加了 13.1%、40.2%和 45.9%,复水 24 h 后达到 -S-H 处理的 102.3%。由此看出,郑引 1 号高水肥型品种的 GSH 含量受水分胁迫和硫营养供给状况的影响显著,而陕合 6 号抗旱型品种的 GSH 含量仅在缺硫情况下对水分胁迫敏感。

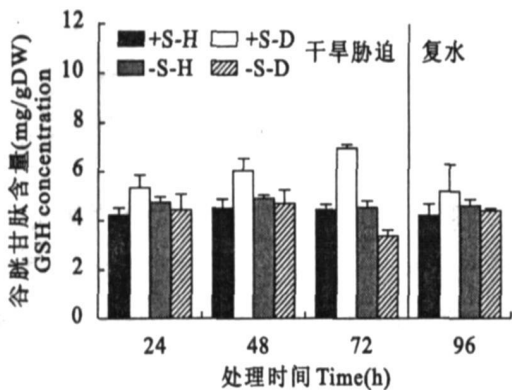


图 1 郑引 1 号小麦叶片中 GSH 含量变化
Fig.1 The changes of GSH of Zhengyin 1

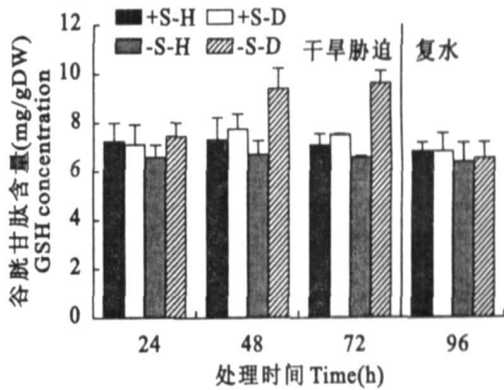


图 2 陕合 6 号小麦叶片中 GSH 含量变化
Fig.2 The changes of GSH of Shaanhe 6

2.2 不同小麦品种中谷胱甘肽含量的差异

比较 2 种小麦品种可以看出,郑引 1 号品种叶片中 GSH 含量显著低于陕合 6 号,表明不同品种在 GSH 含量水平上存在差异。正常供硫时(图 3),水分胁迫处理对于陕合 6 号的 GSH 含量影响不明显,与正常供水处理变化基本一致,而郑引 1 号在干旱胁迫后 GSH 显著增加,在复水后又表现为下降趋势,说明 GSH 含量高是抗旱性品种陕合 6 号的一种

特征。在缺硫条件下(图 4),尽管陕合 6 号的 GSH 含量较高,但其对于干旱胁迫有明显的反应,干旱胁迫导致 GSH 含量显著增大,表现出抗旱品种的高应激反应能力,可依靠加速体内硫转化来提高 GSH 含量。郑引 1 号在缺硫表现为 GSH 含量降低,表明硫营养胁迫对水分敏感型品种的抗旱应激反应能力有一定影响,在干旱胁迫条件下更加依赖外源硫营养以维持其体内 GSH 含量的稳定。

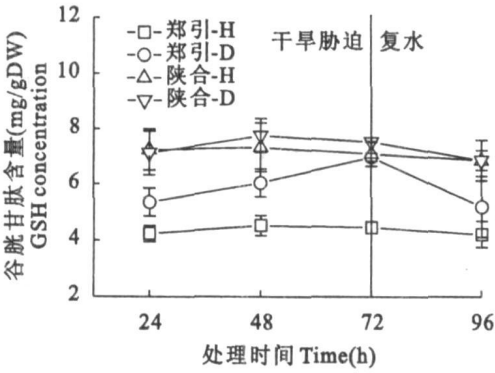


图 3 供硫处理下的 GSH 含量变化

Fig. 3 The changes of GSH concentration in +S treatments

2.3 不同处理的小麦叶片中谷胱甘肽过氧化酶活性变化

不同处理下两种小麦品种的 GSH-PX 活性变化如图 5 和图 6 所示。正常供水条件下, 陕合 6 号品种的 GSH-PX 活性高于郑引 1 号, 但不同硫营养处理对 GSH-PX 活性变化几乎没有影响。水分

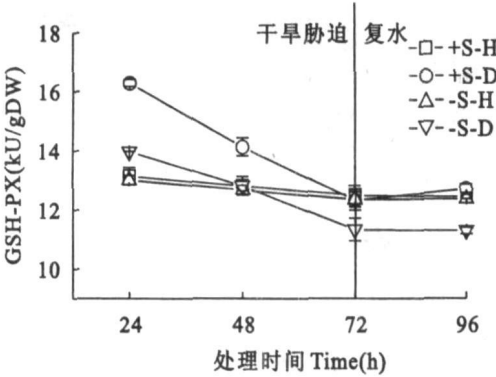


图 5 郑引 1 号品种 GSH-PX 活性变化

Fig. 5 The changes of GSH-PX activity of Zhengyin 1

随着干旱胁迫时间的延长(48~72 h), GSH-PX 活性均呈降低趋势, 但供硫处理的 GSH-PX 活性始终高于缺硫处理。除郑引 1 号缺硫处理外, 其他处理的 GSH-PX 活性均在复水后与正常供水处理接近。由以上分析看出, 郑引 1 号高水肥型品种的 GSH-PX 活性较低, 在缺硫环境下受水分胁迫的诱导不敏感; 而陕合 6 号抗旱型品种的 GSH-PX 活性整体上较高, 并且对水分胁迫的响应比较敏感。

3 讨论

还原性谷胱甘肽是生物细胞中含量最丰富的非蛋白质硫醇化合物。在生物体内不同的胁迫响应途径中, 利用 GSH 的亲核活性来消除活性氧和重金属等对细胞的伤害。因此, 在生物的氧化代谢及抗逆生理中 GSH 发挥着重要的作用^[10]。

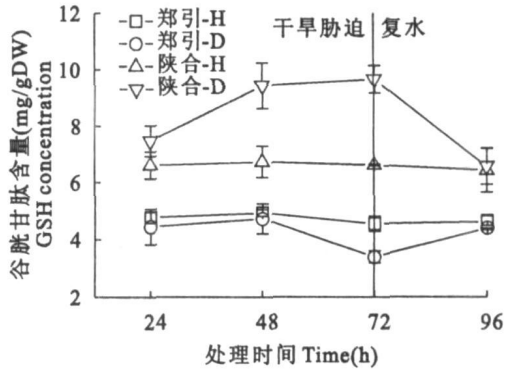


图 4 缺硫处理下的 GSH 含量变化

Fig. 4 The changes of GSH concentration in -S treatments

胁迫初期(24 h)可诱导 GSH-PX 活性增高, 其中郑引 1 号的 +S-D 处理较供水处理增加了 23.9%, 而 -S-D 处理仅增加了 7.4%; 陕合 6 号品种的 +S-D 处理和 -S-D 处理分别较供水处理增加了 24.5% 和 16.8%。

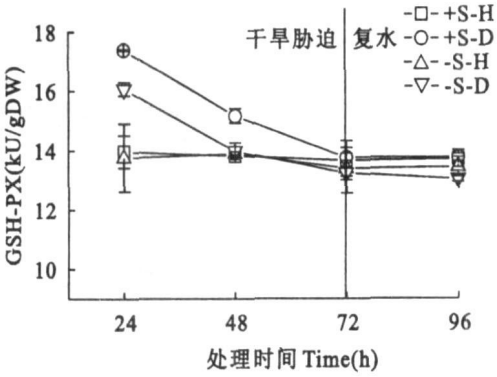


图 6 陕合 6 号品种 GSH-PX 活性的变化

Fig. 6 The changes of GSH-PX activity of Shaanhe 6

硫营养可以提高小麦叶片中 GSH 含量水平, 且可以使敏感性品种在干旱条件下通过提高 GSH 含量来应激环境变化。在正常供水情况下, 两种小麦都不存在干旱胁迫所带来的伤害, 其体内的 GSH 处于正常的代谢中, 所以在整个测定过程中 GSH 含量变化比较稳定。抗旱性品种 GSH 含量处于较高水平, 而水分敏感型品种 GSH 含量较低, 反映了不同品种之间的 GSH 水平的差异, 也表明抗性品种具有维持 GSH 高水平的能力。干旱胁迫可导致抗旱性缺硫处理和水敏感品种供硫处理的 GSH 含量的增加, 这可能是一种生物的应激反应机制。特别是敏感性品种(图 1), 在遭遇干旱胁迫时, 供硫处理的 GSH 含量上升速率明显大于缺硫处理, 说明硫营养可以提高敏感性品种应激环境变化的能力。Kocsy 等^[11]研究表明, PEG 胁迫, 可增加抗性小麦体内

GSH 含量,本试验的结果与其具有相似性。

在逆境条件下,生物体内将产生活性氧,后者可诱发脂质过氧化,使机体组织发生损伤,而 GSH-PXs 是生物体内广泛存在的一类重要的催化过氧化氢分解的酶。GSH-PX 可以促进过氧化氢与还原型谷胱甘肽(GSH)反应生成 H_2O 及氧化型谷胱甘肽(GSSG) ($H_2O_2 + 2GSH \rightarrow H_2O + GSSG$),阻止了 H_2O_2 源的 $OH\cdot$ 自由基的产生以及其触发的膜质的过氧化,可以起到保护细胞膜结构和功能完整性的作用^[12,13]。因此,GSH-PX 活性常作为抗逆性指标用来反映植物的胁迫伤害和评价植物的抗逆能力。

从 GSH-PX 活性变化曲线中可以看出,干旱胁迫可明显的诱导 GSH-PX 活性,供硫处理表现得更明显。对水分敏感品种郑引 1 号来说,在复水后供硫干旱处理的 GSH-PX 活性可恢复到正常水平(和正常供水相比),而无硫干旱处理仍表现为下降趋势,说明硫素营养对于 GSH-PX 活性在解除干旱胁迫之后的恢复过程中有积极作用。与郑引 1 号的表现不同,在干旱胁迫及复水过程中陕合 6 号品种的供硫和无硫处理的 GSH-PX 活性变化曲线表现为几乎相同的趋势。在胁迫 24h 后 GSH-PX 活性迅速升高,随着胁迫时间的延长 GSH-PX 迅速下降,复水之后则表现为恢复趋势,整个变化过程中有硫处理的 GSH-PX 活性一直高于无硫处理。这说明水分胁迫过程中虽然作物叶片内 GSH-PX 的活性遭到“抑制”,但正常供硫可提高作物对 GSH 的利用率。

目前,虽然认为 GSH-PX 在植物的逆境生理中发挥着很重要的作用,但是 GSH-PX 活性在干旱过程中的这种先高后低的变化反映的是作物对干旱胁迫的积极适应性调节过程呢,还是表现为一种被动的受害症状现在还不清楚。即使是一种受伤害过程,其原因也可能是多方面的。干旱胁迫下植物的生理环境可发生一系列相应的变化,这些变化可能对 GSH-PX 的活性产生抑制。此外,干旱对作物产生的这种胁迫环境涉及到对生物功能蛋白质分

子的毒害,可使 GSH-PX 活性降低、变性加快。干旱对 GSH-PX 活性的影响还可发生在 GSH-PX 蛋白质含量水平上,持续的干旱可能会抑制 GSH-PX 蛋白质的合成和加速其降解。至于硫营养是以哪种形式在何种水平上影响了干旱过程中 GSH-PX 活性的变化,还有待深入探讨。

参考文献:

- [1] Schmidt A, Jager K. Open questions about sulfur metabolism in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1992, 43: 325—349.
- [2] Leustek T, Martin M N, Bick J A, et al. Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies[J]. *Annu Rev Plant Physiol, Plant Mol Biol*, 2000, 51: 141—165.
- [3] 曹仪植,宋占午.植物生理学[M].兰州:兰州大学出版社,1998.
- [4] 张秋芳.作物硫素营养的生理作用及其胁迫研究[J].*江西农业大学学报*,2001,23(5):136—139.
- [5] 许洁,曲东.硫对环境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*,2008,26(2):33—37.
- [6] 周莉娜,曲东,邵丽丽,等.干旱胁迫下硫营养对小麦光合色素及 MDA 含量的影响[J].*西北植物学报*,2005,25(8):1579—1583.
- [7] 曲东,邵丽丽,王保莉,等.干旱胁迫下硫对玉米叶绿素及 MDA 含量的影响[J].*干旱地区农业研究*,2004,22(2):91—94.
- [8] 曲东,王保莉,山仑.干旱条件下磷对小麦叶片光和色素的影响[J].*干旱地区农业研究*,1998,16(3):71—77.
- [9] Hoagland D R, Arnon D I. The water-culture method for growing plants without soil[J]. *Calif Agric Exp Stn Circ*, 1950, 347: 1—39.
- [10] Kocsy G, Szalai G, Galiba G. Induction of glutathione synthesis and glutathione reductase activity by abiotic stresses in maize and wheat[J]. *Scientific World Journal*, 2002, 21(2): 1699—1705.
- [11] Kocsy G, Szalai G, Galiba G. Effect of osmotic stress on glutathione and hydroxymethylglutathione accumulation in wheat[J]. *J Plant Physiol*, 2004, 161(7): 785—794.
- [12] 方允中,郑荣梁.自由基生物学的理论与应用[M].北京:科学出版社,2002:529—536.
- [13] Bercezi A, Moller I M. Redox enzymes in the plant plasma membrane and their possible roles[J]. *Plant Cell Environ*, 2000, 23: 1287—1302.

Effect of sulphur on the content of GSH and the activity of GSH—PX in wheat leave under drought stress

QIU Rui¹, WANG Zhao¹, WANG Bao-li¹, QU Dong²

(1. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Glutathione (GSH) in organism may play an important role on elimination of reactive Oxygen species produced under stress. There are close relationship between absorbtion of inorganic sulphur and transformation/assimilation of organic sulphur in organism. Research on effect of sulphur on the content of GSH and the activity of glutathione peroxidase (GSH—PX) in wheat leave under drought stress may have a greatly significance for illustrating resisting stress mechanism of sulphur nutrition. The content of GSH and the activity of GSH—PX of the seedling of drought-sensitive wheat strain Zhengyin No. 1 and drought-tolerant strain Shanhe No. 6 cultured in complete Hoagland solution containing sulphur and Hoagland solution without sulphur were compared. The results showed the content of GSH of drought-tolerant wheat was clearly higher than the drought-sensitive wheat. Under drought stress, the GSH content in Zhengyin No. 1 with the sulphur-lack treatment were rised rapidly, in which increasing 26.4%, 33.5% and 56.6% compare to Shanhe No. 6, at 24 h, 48 h and 72 h of drought stress, respectively. For Shanhe No. 6, the chenges of GSH content during 72 h drought stress with the treatment of sulphur-rich were unconsipicuous, which was 98.3% to 106.1% under providing water, but the one with the treatment of sulphur-lack rised conspicuously, was 13.1%, 40.2% and 45.9% than under providing water. The GSH content for Zhengyin No. 1 was remarkable impressed by drought stress and supplyment of sulphur nutrition, but for Shanhe No. 6, was only sensitively to drought stress under the sulphur-lack. At the initial stages (24 h), the GSH—PX activities were increased. For Zhengyin No. 1, GSH—PX activities under the treatment of sulphur-rich were 23.9% higher than under the water-providing treatment, but it was only 7.4% under the treatment of sulphur-lack higher than the treatment of water-providing.; for Shanhe No. 6, GSH—PX activities were respectively 24.5% under the treatment of sulphur-rich and 16.8% under the treatment of sulphur-lack higher than the treatment of water-providing, respectively. As the prolong of the drought stress, the activities of GSH—PX were all fall down, but under the treatment of sulphur-rich it was always higher than the treatment of sulphur-lack. For Zhengyin No. 1, the activities of GSH—PX level were lower, and unsensitively to drought stress under the sulphur-lack, however, for Shanhe No. 6, it was all higher, and sensitively to drought stress.

Key words: sulphur; drought stress; GSH; GSH—PX