

网络出版时间:2024-11-13

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20241112.1449.006

硫酸铜胁迫对小麦种子淀粉分解、 抗氧化特性及幼苗生长的影响

许世初,梁丹丹,邹帆,屠钰欢,郭天荣,王海,莫亿伟

(绍兴文理学院生命与环境科学学院,浙江绍兴 312000)

摘要:为了揭示 Cu^{2+} 胁迫对小麦种子萌发和幼苗生长的毒害机制,采用水培法,在 1/100 的 MS 培养基里加入不同剂量的 CuSO_4 [0(CK)、30、60 和 90 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$], 对小麦进行浸种和幼苗培养,测定小麦种子、幼叶及种子根的生理指标和生长参数。结果表明,与 CK 相比, CuSO_4 胁迫下小麦种子萌发过程中的淀粉酶活性、淀粉粒分解速率、可溶性总糖、可溶性蛋白和氨基酸含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性均显著降低($P < 0.05$),过氧化物酶(POD)活性显著增加。种子萌发后,种子根内 SOD、CAT 和 POD 活性均随 CuSO_4 浓度的增加而增加,但呼吸脱氢酶活性、超氧阴离子(O_2^-)含量和 H_2O_2 荧光强度均显著下降。小麦幼苗在 CuSO_4 胁迫下 Cu 主要积累于种子根内,导致根尖有丝分裂明显受阻,使株高、根长、种子根数量和植株干重均显著下降。综上, Cu^{2+} 对小麦幼苗的毒害表现出剂量依赖性效应; Cu^{2+} 通过降低小麦种子萌发阶段的淀粉酶活性抑制淀粉分解,引起氧化损伤,最终阻碍幼苗生长。

关键词: 小麦; 种子; 硫酸铜; 抗氧化特性

中图分类号: S512.1; S311

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2025)01-0112-09

Effect of CuSO_4 Stress on Starch Decomposition in Seed, Anti-Oxidant Properties and Seedling Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.)

XU Shichu, LIANG Dandan, ZOU Fan, TU Yuhuan, GUO Tianrong, WANG Hai, MO Yiwei

(School of Life and Environmental Sciences, Shaoxing University, Shaoxing, Zhejiang 312000, China)

Abstract: In order to reveal the toxic mechanism of Cu^{2+} stress on wheat seed germination and seedling growth, different doses of CuSO_4 [0(CK), 30, 60, and 90 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$] were added to 1/100 MS medium for soaking and seedling cultivation of wheat by hydroponics, and physiological indicators and growth parameters of wheat seeds, young leaves, and seed roots were measured. The results showed that compared with the CK, the amylase activity, starch granule decomposition rate, total soluble sugar, soluble protein and amino acid content, and antioxidant enzyme activities such as superoxide dismutase(SOD) and catalase(CAT) activity of wheat seeds during germination under CuSO_4 stress were significantly decreased ($P < 0.05$), while the peroxidase(POD) activity was significantly increased. After seed germination, the activities of SOD, CAT, and POD in the seed roots increased with the increase of CuSO_4 concentration, but the activity of respiratory dehydrogenase, the content of superoxide anion(O_2^-), and the fluorescence intensity of H_2O_2 all significantly decreased. Under CuSO_4 stress, Cu^{2+} was mainly accumulated in the seed roots of seedlings, leading to significant inhibition of root tip mitosis, and resulting in a significant decrease in plant height, root length, number of seed roots, and plant dry weight. In summary, the toxicity of Cu^{2+} to wheat seedlings exhibits a concentration dependent dose-response relationship. Cu^{2+} inhibits starch degradation during wheat seed

收稿日期:2023-12-24 修回日期:2024-04-08

基金项目:国家自然科学基金项目(31500321)

第一作者 E-mail:1084593043@qq.com(许世初)

通讯作者 E-mail:ywmo@163.com(莫亿伟)

germination by reducing amylase activity, causing oxidative damage and ultimately hindering seedling growth.

Keywords: Wheat; Seedlings; CuSO_4 ; Antioxidant activity

铜(Cu)是植物生长的必需元素,也是叶绿体光合电子传递链的重要组分,广泛参与植物体内多种代谢途径。近年来,由于电子产业等的快速发展,农田受 Cu 等重金属的污染也日益加剧。有研究发现,每年土壤中的 Cu^{2+} 增幅约为 $2.5 \sim 9.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 远超植物正常生长所需^[1-3]。 Cu^{2+} 胁迫导致农作物的植株瘦小、根系生长受阻、叶片变黄、分蘖减少、产量下降等^[4]。小麦(*Triticum aestivum* L.)是中国主要粮食作物,当土壤或灌溉水受 Cu^{2+} 浸染后,小麦生长和产量会受到影响,而且富集于籽粒内的 Cu^{2+} 会通过食物链影响人体健康^[5-6]。种子萌发是植物最重要的生长阶段,只有将贮藏物质(如淀粉)快速分解才能供给幼苗生长^[7]。但种子萌发过程极易受 Cu^{2+} 胁迫影响,如 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CuSO_4 溶液胁迫后,粳稻品种春江 06 的种子发芽率下降到 83%,生根率仅为 61%,且芽长、根长以及芽和根的质量也显著低于对照^[8];当 Cu^{2+} 浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对水稻根生长的抑制率达 54%,若浓度达 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抑制率则高达 99%,幼苗根长与 Cu^{2+} 浓度呈显著负相关^[9]。铜胁迫还可引起植株氧化伤害^[10]。受纳米铜粒子(CuONPs)胁迫后植物 DNA 降解,植株生长受阻^[11]。 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuONPs 胁迫可导致水稻幼苗活性氧增加,引起氧化伤害,使控制细胞分裂相关的基因表达下降,抑制幼苗生长^[12-14]。此外,受铜胁迫后,水稻根系对氮吸收能力下降,并影响光合速率,进而抑制幼苗的生长^[15]。铜胁迫也会使小麦种子萌发率和萌发势下降,显著抑制植株的生长^[16-18]。 Cu^{2+} 胁迫影响小麦种子萌发的具体生理机制目前尚不清楚,本研究采用水培法,使用不同剂量 CuSO_4 对小麦进行浸种和幼苗培养,探究 CuSO_4 对小麦种子、幼叶及种子根的影响,探明 Cu^{2+} 胁迫对小麦种子萌发和幼苗生长的毒害机制,以期小麦抗铜胁迫栽培提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料处理与方 法

以小麦品种世纪 281(中国科学院遗传与发育生物学研究所选育)种子为试验材料。试验前期对 CuSO_4 浓度进行筛选。为了防止单盐毒害,

用自来水将 MS 培养基稀释成 1/100 MS 溶液作为对照(CK)。再在 1/100 MS 培养基中加入不同剂量的 CuSO_4 ,配制成 0(CK)、30、60 和 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 CuSO_4 溶液,用于浸种(浸泡 12 h)和培养幼苗。在装有两层滤纸的培养皿中,每个培养皿放置 30 粒种子,每日更换相同浓度培养液一次,保证种子根和种子能充分接触到溶液,每处理重复 3 次。

在经过不同浓度 CuSO_4 胁迫处理的第 2 天和第 5 天,从培养皿中分别取出小麦种子,参考刘晶等^[19]的方法对小麦种子 α -淀粉酶活性表观测定。取近胚端的种子(保留胚芽和胚根)在种子的中部横切,将横切面朝下垂直放置于含有淀粉的培养基上,并保证种子横切面与培养基充分接触。培养皿封口后置于 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 90% 相对湿度的培养箱中培养 24 h,移除种子,用 I_2 -KI 溶液对培养皿内的培养基染色,淀粉酶活性越高,培养基上的透明圈就越大。取 CuSO_4 处理后的种子(去掉胚芽和胚根),用 3, 5-二硝基水杨酸比色法^[20]测定 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性;用蒽酮比色法^[20]测定种子内可溶性总糖含量;用茚三酮法^[20]测定种子氨基酸含量;用考马斯亮蓝法^[20]测定种子可溶性蛋白含量;用四氮唑蓝(NBT)法测定种子的超氧化物歧化酶(SOD)活性;用紫外吸收法测定种子过氧化氢酶(CAT)活性;用愈创木酚法^[20]测定种子的过氧化物酶(POD)活性。将部分 CuSO_4 处理后的小麦种子置于 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中充分烘干后,在种子中部制成横断面,喷金处理后,用扫描电镜观察胚乳细胞内淀粉粒结构的变化^[21]。

由于幼苗种子根直接与 CuSO_4 溶液接触,进一步测定了不同浓度 CuSO_4 胁迫后种子根的 SOD、CAT 和 POD 的活性;用 NBT 染色法^[19]对根尖进行染色,检测 O_2^- 产生速率;用 TTC 染色法^[20]检测根尖呼吸脱氢酶的活性;用 H_2DCFDA 对根尖染色后,在荧光显微镜下观察根尖的 H_2O_2 荧光强度^[20]。当种子根长为 0.5 cm 时,取根尖 2~3 mm 部分,用盐酸(15%)和酒精(95%)按 1:1 配制裂解液,将根尖裂解 20 min 后,再用 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 龙胆紫溶液染色,显微镜下观察根尖分生区有丝分裂情况。在培养第 5 天测量幼苗株

高及种子根的数量、最大长度和生物量。种子根和幼叶经 80 °C 烘干、消煮并定容后,取上清液采用电感耦合等离子体光谱仪 ICP-AES 测定 Cu 含量。

1.2 数据处理

用 SPSS17.0 软件对数据进行方差分析,并在 0.05 水平上进行多重比较。

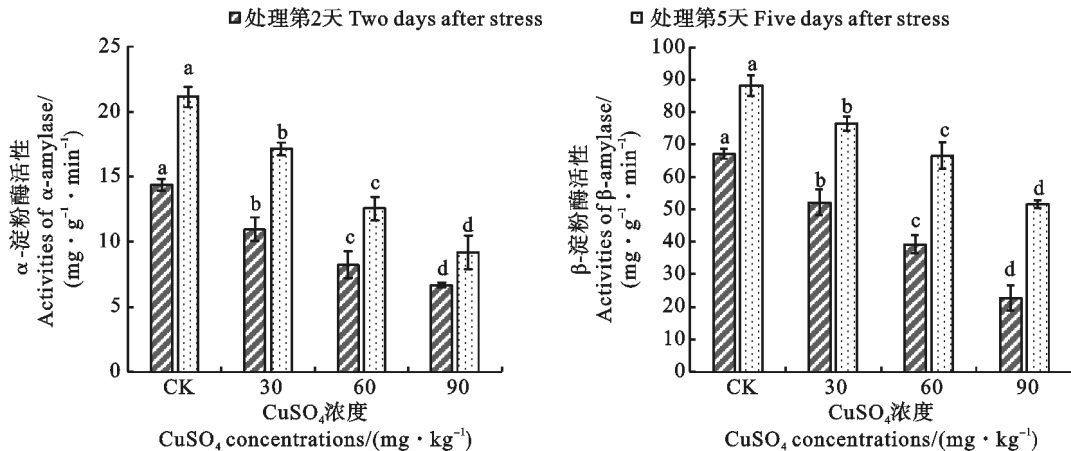
2 结果与分析

2.1 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦种子淀粉酶活性和胚乳细胞淀粉粒结构的影响

与 CK 相比,CuSO₄ 胁迫导致 α-淀粉酶和 β-淀粉酶活性均显著下降,下降程度均随 CuSO₄ 浓度的增加而增大(图 1)。30、60 和 90 mg · kg⁻¹ 小麦种子 α-淀粉酶活性在 CuSO₄ 胁迫处理 2 d 后分别下降了 23.88%、42.77%和 53.68%,在胁迫处理 5 d 后分别下降了 18.86%、40.61%和 56.69%;β-淀粉酶活性在 CuSO₄ 胁迫处理 2 d 后分别下降了 22.33%、41.49%和 66.21%,在胁迫 5 d 后分别下降了 13.10%、24.40%和 41.57%。

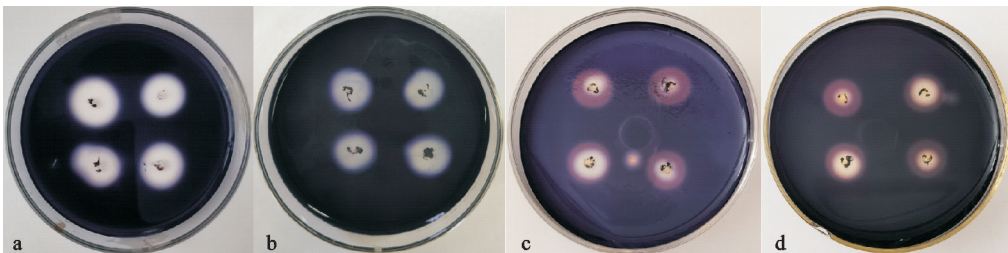
进一步通过定性分析发现,CuSO₄ 胁迫后 α-淀粉酶的透明圈明显比 CK 小(图 2),且随 CuSO₄ 浓度的增加而变小,有些还出现棕褐色的现象(图 2c 和图 2d),说明 CuSO₄ 胁迫使小麦种子淀粉酶对淀粉的分解能力减弱。

通过扫描电镜观察小麦种子腹部胚乳细胞结构也发现,胁迫处理 2 d 后,CK 的淀粉粒表面出现了许多小孔(图 3a);30 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 胁迫下只有少数小孔出现(图 3b);60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 胁迫下淀粉粒表面光滑,无小孔(图 3c 和图 3d)。在胁迫处理 5 d 后,CK 处理的大量淀粉粒已被降解,小孔形态变得更加不规则,淀粉粒间全部凹陷且粘连在一起(图 3e)。30 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 胁迫下淀粉粒表面的小孔变大,内部开始变成空洞(图 3f);60 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 胁迫下淀粉粒的表面才开始有小孔出现(图 3g);90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 胁迫下淀粉粒表面出现的小孔数量相对较少(图 3h)。这说明 CuSO₄ 胁迫下小麦淀粉粒的分解受阻,且随 CuSO₄ 浓度的增加而加重,这是因淀粉酶活性下降导致。



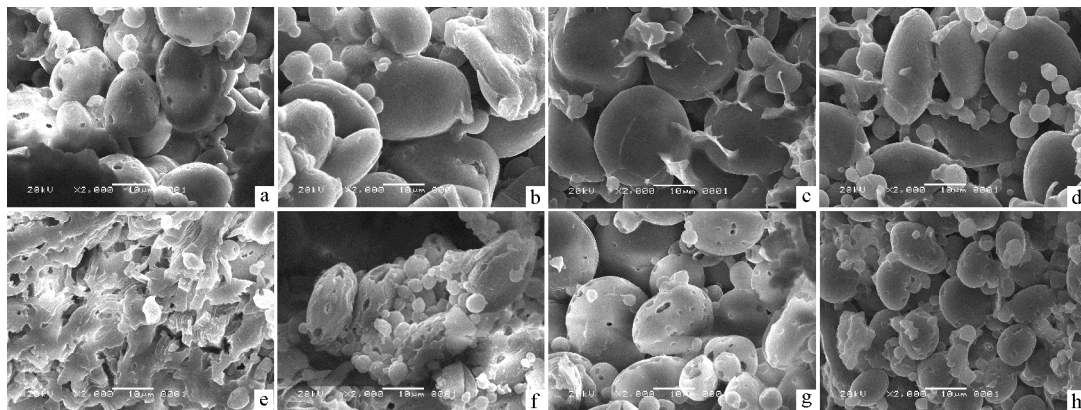
同一时期图柱上不同字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)。图 4~6、9 和 10 同。 Different letter above the columns of same stage indicate significant differences among different treatments at 0.05 level. The same in figures 4~6, 9 and 10.

图 1 不同浓度 CuSO₄ 胁迫下小麦种子淀粉酶活性的差异 Fig. 1 Difference of amylase activities in wheat seeds under different concentrations of CuSO₄



a:CK;b:30 mg · kg⁻¹ CuSO₄;c:60 mg · kg⁻¹ CuSO₄;d:90 mg · kg⁻¹ CuSO₄.

图 2 不同浓度 CuSO₄ 胁迫对小麦种子 α-淀粉酶活性的影响 Fig. 2 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on α-amylase activities in wheat seeds



a, e; CK; b, f; 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄; c, g; 60 mg · kg⁻¹ CuSO₄; d, h; 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄; a, b, c 和 d 为胁迫处理后 2 d; e, f, g 和 h 为胁迫处理后 5 d。

a, e; CK; b, f; 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄; c, g; 60 mg · kg⁻¹ CuSO₄; d, h; 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄; a, b, c 和 d are 2 days after stress; e, f, g and h are 5 days after stress.

图 3 不同浓度 CuSO₄ 胁迫对小麦淀粉粒结构变化的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on the structure of starch granules in wheat endosperm during germination

2.2 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦种子内可溶性总糖、可溶性蛋白和氨基酸含量的影响

随着 CuSO₄ 胁迫时间的延长,小麦种子内可溶性总糖出现先升后降趋势(图 4A)。CK 的可溶性糖含量在不同时间均显著高于各 CuSO₄ 处理,且随着 CuSO₄ 浓度的增加,可溶性总糖含量较 CK 的下降幅度增大。在胁迫处理第 5 天时,30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理的可溶性总糖较 CK 分别下降了 36.45%、62.50% 和 69.42%。

从图 4B 可知,在胁迫处理的前 2 d,CK 的可溶性蛋白含量显著高于各 CuSO₄ 处理;胁迫处理第 3 和第 4 天则无显著性差异;而在胁迫处理第 5 天时,CK 的可溶性蛋白含量又显著高于各 CuSO₄ 处理,30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理较

CK 分别下降 10.38%、21.92% 和 38.21%。

随着萌发时间的延长,种子内总氨基酸含量呈先上升后下降趋势(图 4C)。CK 的总氨基酸含量在不同时间均显著高于各 CuSO₄ 处理,且随着 CuSO₄ 浓度的增加,总氨基酸含量下降更显著。胁迫处理第 5 天时,30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理较 CK 分别下降了 26.92%、33.31% 和 48.87%。

2.3 不同浓度 CuSO₄ 处理对萌发小麦种子抗氧化酶活性的影响

随着萌发时间的延长,种子内 SOD 活性持续下降,CAT 活性呈先上升后下降的趋势,而 POD 活性则在胁迫处理前 4 d 变化不大,胁迫处理第 5 天时开始急剧升高(图 5)。SOD 活性除胁迫处理第 1 天在不同处理间没有显著性差异外,其余时

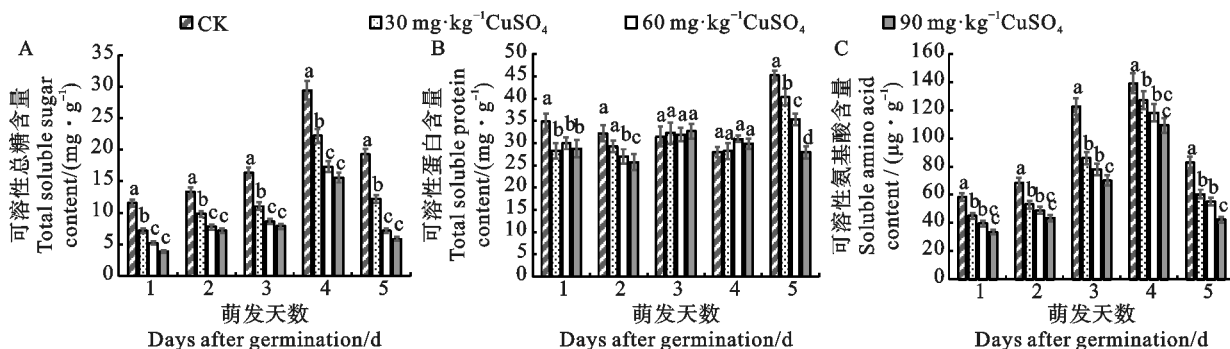


图 4 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦种子可溶性总糖(A)、可溶性蛋白(B)和氨基酸(C)含量的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on the contents of total soluble sugar(A), soluble protein(B) and amino acid(C) in wheat seeds during germination

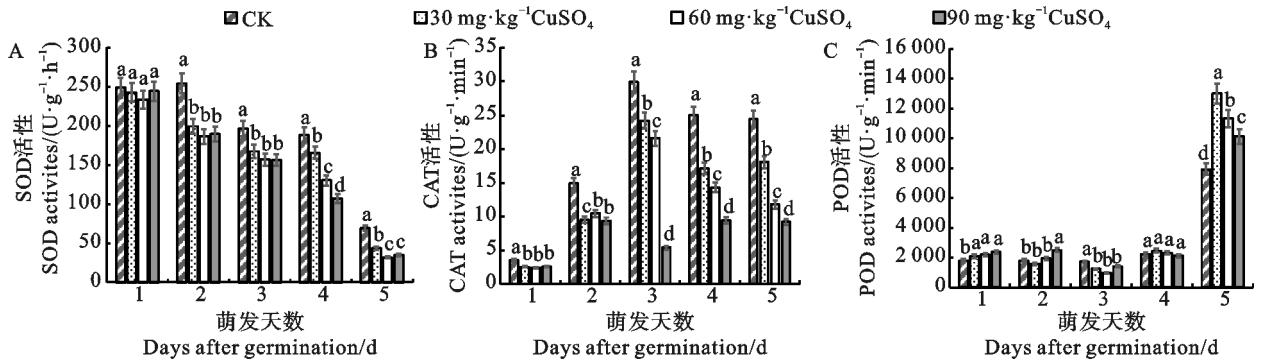


图 5 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦种子 SOD、CAT 和 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on SOD, CAT and POD activities in wheat seeds during germination

间各 CuSO₄ 处理 SOD 活性均显著低于 CK; 在胁迫处理第 5 天时, 30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理的 SOD 活性分别较 CK 下降了 37. 11%、54. 06% 和 49. 56%。

在同一时间, 30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理的 CAT 活性均明显低于 CK, 其中在胁迫第 5 天时降幅分别为 25. 44%、51. 38% 和 62. 12%。

在胁迫处理第 5 天时, 各 CuSO₄ 处理的 POD 活性均显著高于 CK。

2.4 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦幼苗种子根抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响

随着萌发时间的延长, 小麦幼苗种子根内 SOD 活性不断增加, CAT 活性呈先升后降趋势, POD 活性则变化平稳, 且在同一时间各 CuSO₄

处理的三种酶活性均显著高于 CK(图 6)。在胁迫处理第 5 天时, 30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理 SOD 活性分别比 CK 增加了 37. 11%、54. 06% 和 49. 56%, CAT 活性分别增加了 77. 85%、30. 08% 和 166. 77%, POD 活性分别增加了 17. 40%、78. 83% 和 119. 34%。

随 CuSO₄ 浓度的增加, 幼苗种子根和地上部分 MDA 含量均显著大于 CK。在胁迫处理第 5 天时, 30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理下种子根的 MDA 含量分别较 CK 增加了 1. 83 倍、2. 62 倍和 2. 96 倍(图 6D)。此外, 种子根内 MDA 含量远大于地上部分幼叶的 MDA 含量(图 6E), 如 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理 5 d 后, 种子根的 MDA 含量是地上部分的 2. 53 倍, 说明种子根受到 Cu²⁺ 的氧化伤害要大于幼叶。

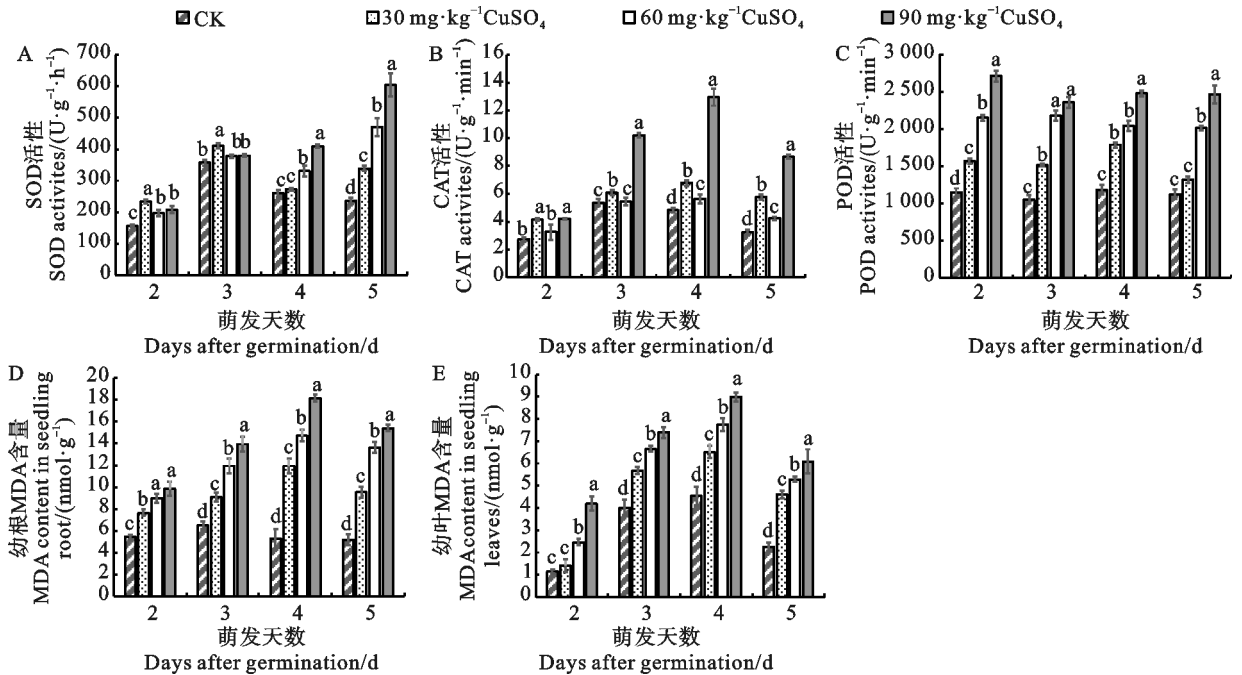


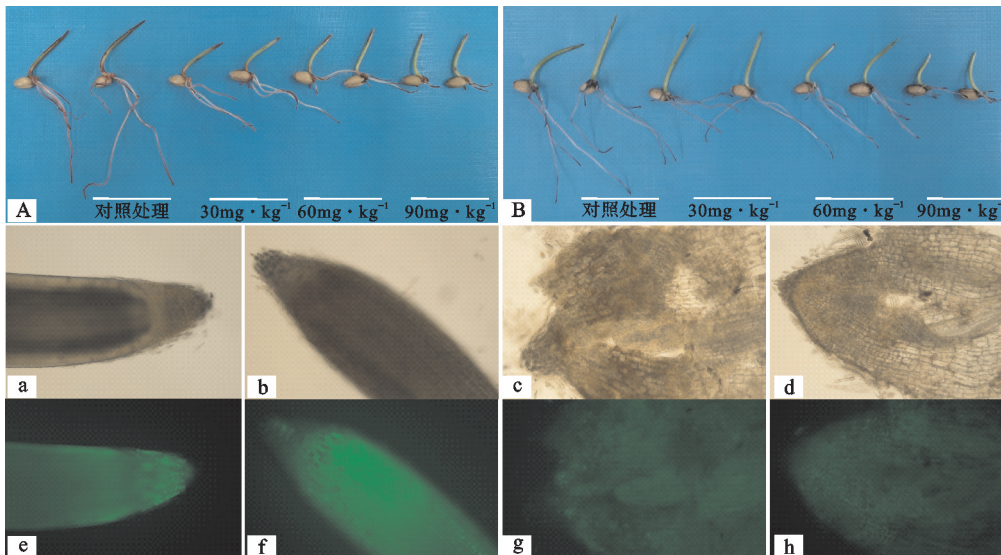
图 6 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦种子根 SOD、CAT 和 POD 活性及根和幼叶 MDA 含量的影响

Fig. 6 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on activities of SOD, CAT and POD and MDA content in wheat seedling roots and leaves

2.5 CuSO₄ 胁迫对小麦幼苗根尖呼吸脱氢酶活性、O₂⁻ 含量和 H₂O₂ 含量的影响

随着 CuSO₄ 浓度的增加,根尖呼吸脱氢酶活性、O₂⁻ 和 H₂O₂ 含量均呈下降趋势(图 7)。经 TTC、NBT 和荧光染色后,CuSO₄ 处理的根尖较

CK 分别表现染色范围明显变少、着色明显变浅和荧光明显减弱,说明根尖的 O₂⁻ 也变少。荧光染色结果表明,随着 CuSO₄ 胁迫对小麦根尖呼吸脱氢酶活性及 O₂⁻ 和 H₂O₂ 产生和积累量产生抑制作用。



A: TTC 染色结果; B: NBT 染色结果。a~h 为 H₂O₂ 荧光强度,其中 a 和 e 为对照; b 和 f 为 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄; c 和 g 为 60 mg · kg⁻¹ CuSO₄; d 和 h 为 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄; a~d 为白光; e~h 为荧光。

A: TTC staining result; B: NBT staining result. a—h: H₂O₂ fluorescence intensity. a and e: CK; b and f: 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄; c and g: 60 mg · kg⁻¹ CuSO₄; d and h: 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄; a—d: In bright field; e—h: In fluorescence probe field.

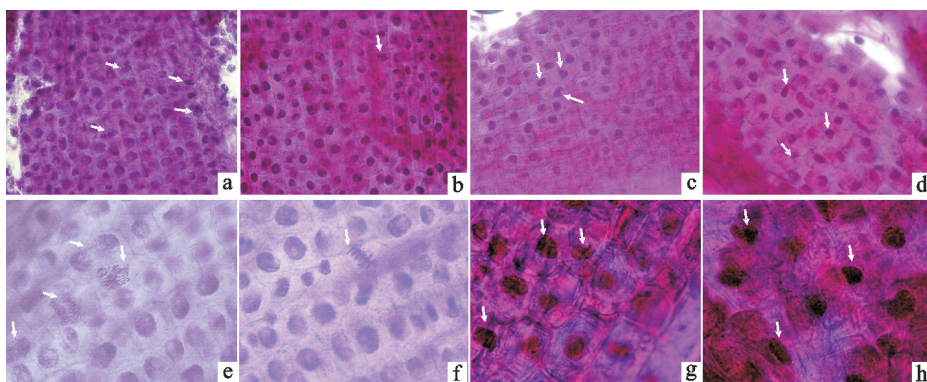
图 7 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦幼苗根尖脱氢酶活性、O₂⁻ 和 H₂O₂ 含量的影响

Fig. 7 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on dehydrogenase activity, O₂⁻ and H₂O₂ content in wheat seedling root

2.6 CuSO₄ 胁迫对小麦乳苗期根尖有丝分裂的影响

观察发现,CK 的根尖分生区内有大量细胞正在进行有丝分裂,且有丝分裂的前、中、末和间期细胞均有分布(图 8a 中箭头所示)。在 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理下,根尖细胞有丝分裂明显减少,仅极少量细胞处于有丝分裂期(图 8b 中箭头所示),

整个视野只有一个细胞处于有丝分裂中期(图 8f 中箭头所示)。60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理下,没有出现有丝分裂,且处于分裂间期的细胞染色程度加深,细胞核变成了不规则形状(图 8c、图 8d、图 8g 和图 8h 中箭头所示),说明受高浓度的 CuSO₄ 胁迫后,根尖的细胞核形态发生凝聚,无法进行有丝分裂。



a 和 e: CK; b 和 f: 30mg · kg⁻¹ CuSO₄; c 和 g: 60mg · kg⁻¹ CuSO₄; d 和 h: 90mg · kg⁻¹ CuSO₄; a, b, c 和 d: 400 倍; e, f, g 和 h: 1 000 倍。

a 和 e: CK; b 和 f: 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄; c 和 g: 60 mg · kg⁻¹ CuSO₄; d 和 h: 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄; a, b, c 和 d: 400 ×; e, f, g 和 h: 1 000 ×.

图 8 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦乳苗期根尖细胞有丝分裂的影响

Fig. 8 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on mitosis in wheat seedling root tip

2.7 CuSO₄ 胁迫对小麦乳苗期种子根和芽中 Cu 含量的影响

从图 9 可知,在 30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理 5 d 后,小麦根中 Cu 含量比 CK 分别增加了 3.83、4.91 和 5.96 倍,差异显著;叶片 Cu 含量也显著大于 CK。同一 CuSO₄ 处理下种子根积累的 Cu 要远大于幼叶,这可能与根直接接触 CuSO₄ 有关。

2.8 CuSO₄ 胁迫对小麦幼苗生长参数的影响

随着 CuSO₄ 处理浓度增加,小麦株高、种子根的最大长度和根数均显著低于 CK(图 10A~图 10C)。在胁迫处理 5 d 后,30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理的株高比 CK 分别下降了 27.71%、50.27%和 60.02%,种子根的最大长度分别下降了 55.23%、66.37%和 69.93%,种子根的数量分别下降了 4.17%、16.89%和 26.83%,除 30 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理的种子根数量与 CK 无显著差异外,各处理的三个指标与 CK 差异均显著。CuSO₄ 处理后,幼苗鲜重和干重均显著低于 CK,

在胁迫处理 5 d 后,30、60 和 90 mg · kg⁻¹ CuSO₄ 处理的幼苗干重分别比 CK 下降了 35.96%、46.07%和 60.11%(图 10D)。由此可见,CuSO₄ 胁迫会抑制小麦幼苗的生长发育,抑制程度随 CuSO₄ 浓度的增加而增大。

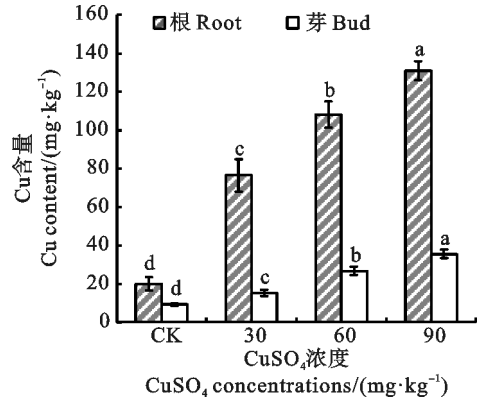


图 9 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦种子根和芽 Cu 含量的影响

Fig.9 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on Cu content in root and bud of wheat seedling

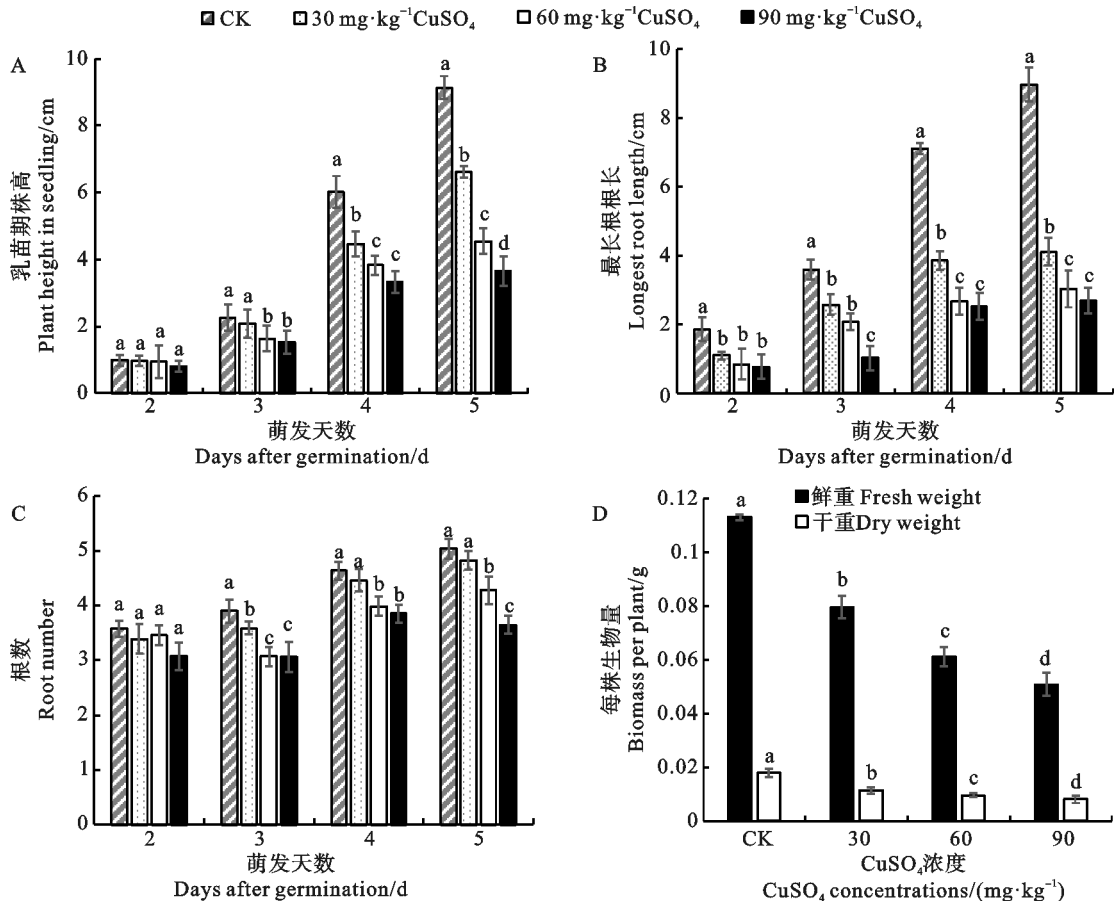


图 10 不同浓度 CuSO₄ 处理对小麦幼苗生长参数的影响

Fig.10 Effect of different concentrations of CuSO₄ stress on growth parameters of wheat seedling

3 讨论

研究表明, CuSO_4 胁迫可降低小麦种子萌发过程中淀粉酶活性, 使淀粉分解能力减弱, 导致种子内可溶性总糖、可溶性蛋白质及氨基酸含量减少, 也相应地降低幼苗从库端即种子内快速获得养分供应的能力, 抑制幼苗生长, 这与前人发现 Cu^{2+} 胁迫导致水稻植株矮小的结果相似^[22]。且受 CuSO_4 胁迫后, 小麦幼苗根尖分生区细胞核出现固缩, 变成不规则形状并导致核物质凝聚, 从而使根尖细胞有丝分裂受阻, 这与前人发现 Cu^{2+} 胁迫可诱导小麦根尖细胞空泡化, 出现细胞核、核仁及细胞器消失的现象类似^[23-24]。由此说明, Cu^{2+} 胁迫直接影响细胞核遗传物质的功能。本研究还发现, Cu^{2+} 胁迫对种子根生长的抑制作用远大于地上部分, 可能与种子根直接接触 CuSO_4 溶液有关, 而且 Cu^{2+} 在根部的积累量也远大于叶片, 这可能是 Cu^{2+} 经根部吸收后不易于向地上部分运输所致^[4, 23]。与此同时, Cu^{2+} 胁迫下种子内 SOD 和 CAT 活性显著降低, 而种子根的 SOD、CAT 和 POD 活性则显著高于 CK, 说明小麦种子根对 Cu^{2+} 胁迫更为敏感, 并能通过提高的抗氧化酶活性来清除过多的活性氧。这与前人在海州香薷上得出的研究结论相似^[25]。但在本试验中, 随着 Cu^{2+} 浓度的增大, 小麦幼苗根尖内 ROS 荧光强度则相应的减弱。究其原因, 一方面可能是抗氧化酶活性增加对其清除作用增强; 另一方面可能是 ROS 的产生量减少, 因为 ROS 主要源于根尖线粒体呼吸链, 受高浓度 Cu^{2+} 胁迫后, 根尖细胞呼吸速率下降, 从而造成 ROS 产生速率减少, 说明 Cu^{2+} 可能对线粒体产生胁迫作用。有研究结果显示, 受 Cu^{2+} 胁迫后, 在玉米根尖的细胞核、线粒体和叶绿体等细胞器内均有 Cu^{2+} 的分布, 推测小麦幼苗根尖内的线粒体和细胞核对 Cu^{2+} 胁迫也非常敏感, 导致 ROS 正常形成和根尖分生区的有丝分裂均受阻^[26]。ROS 如 H_2O_2 、 $\cdot\text{OH}$ 和 O_2^- 可使细胞壁松弛, 在促进细胞伸展和细胞生长中有重要作用^[27], 当 ROS 产生量过度减少后, 可能也会导致小麦种子根的生长受阻。有研究证实, 当 ROS 合成受阻后, 水稻种子萌发速率会显著降低, 幼苗的生长被抑制^[28-29]。本研究中, Cu^{2+} 胁迫不但对小麦种子萌发和幼苗生长造成生理性毒害, 还能引起细胞遗传性毒害。 Cu^{2+} 在根部过度积累, 导致膜脂过氧化加剧, 致使 MDA

含量增加, 使根尖细胞有丝分裂受阻无法形成新的细胞, 抑制幼苗生长。但 Cu^{2+} 降低淀粉酶活性和根尖有丝分裂的生理与分子机制还需要深入研究。

参考文献:

- [1] 王子诚, 陈梦霞, 杨毓贤, 等. 铜胁迫对植物生长发育影响与植物耐铜机制的研究进展[J]. 植物营养与肥科学报, 2021, 27(10):1849.
WANG Z C, CHEN M X, YANG Y X, *et al.* Effects of copper stress on plant growth and advances in the mechanisms of plant tolerance research [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(10):1849.
- [2] 张敏, 梁国鹏, 姜春辉, 等. 外源一氧化氮介导铜胁迫下番茄幼苗中铁、锌、锰的累积及亚细胞分布[J]. 植物营养与肥科学报, 2014, 20(3):670.
ZHANG M, LIANG G P, JIANG C H, *et al.* Exogenous nitric oxide involved in the accumulation and subcellular distribution of Fe, Zn and Mn in tomato seedlings under copper stress [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(3):670.
- [3] 公勤, 康群, 王玲, 等. 外源添加物质对 Cu 的植物毒害调节机理研究进展[J]. 中国农学通报, 2018, 34(23):117.
GONG Q, KANG Q, WANG L, *et al.* Regulation mechanism of exogenous substances on Cu poison in plant [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(23):117.
- [4] SINGH R P, JHA P N. Priming with ACC-utilizing bacterium attenuated copper toxicity, improved oxidative stress tolerance, and increased phytoextraction capacity in wheat [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25(33):33755.
- [5] LI Q, CHEN H H, QI Y P, *et al.* Excess copper effects on growth, uptake of water and nutrients, carbohydrates, and PSII photochemistry revealed by OJIP transients in *Citrus* seedlings [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019, 26(29):30188.
- [6] MAHAR A, WANG P, ALI A, *et al.* Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 126:111.
- [7] 赵玉锦, 王台. 水稻种子萌发过程中 α -淀粉酶与萌发速率关系的分析[J]. 植物学通报, 2001, 36(2):226.
ZHAO Y J, WANG T. Analysis of the relationship between α -amylase and germinating rate of rice seeds during the process of seed germination [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2001, 36(2):226.
- [8] 饶玉春, 杨窑龙, 李晓静, 等. 水稻萌发期耐 Cu^{2+} 胁迫的 QTL 定位[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2013, 36(2):198.
RAO Y C, YANG Y L, LI X J, *et al.* QTL analysis on copper-resistant at germination stage in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Journal of Zhejiang Normal University (Natural Sciences)*, 2013, 36(2):198.
- [9] 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, 41(2):129.
HU Z B, CHEN Y H, WANG G P, *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, 41(2): 129.
- [10] 陈玉胜, 陈全战, 邹旭婷. 铜胁迫对水稻和小麦种子萌发的影响[J]. 南京晓庄学院学报, 2018, 34(6): 82.
CHEN Y S, CHEN Q Z, ZOU X T. Effects of copper stress on germination of rice and wheat seeds [J]. *Journal of Nanjing Xiaozhuang University*, 2018, 34(6): 82.
- [11] WANG S, LIU H, ZHANG Y, *et al.* The effect of CuONPs on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2015, 34(3): 554.
- [12] ZHANG H, HU L Y, HU K D, *et al.* Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, 50(12): 1518.
- [13] SHAW A K, HOSSAIN Z. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings [J]. *Chemosphere*, 2013, 93(6): 906.
- [14] LIU J, DHUNGANA B, COBB G P. Environmental behavior, potential phytotoxicity, and accumulation of copper oxide nanoparticles and arsenic in rice plants [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2018, 37(1): 11.
- [15] 徐加宽, 杨连新, 王志强, 等. 土壤铜含量对水稻氮素吸收利用及其产量的影响[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2008, 29(2): 72.
XU J K, YANG L X, WANG Z Q, *et al.* Effects of soil copper concentration on nitrogen uptake and grain yield of rice [J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2008, 29(2): 72.
- [16] YUE Z, CHEN Y, CHEN C, *et al.* Endophytic *Bacillus altitudinis* WR10 alleviates Cu toxicity in wheat by augmenting reactive oxygen species scavenging and phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 405: 124272.
- [17] XIN X, ZHAO F, RHO J Y, *et al.* Use of polymeric nanoparticles to improve seed germination and plant growth under copper stress [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 745: 141055.
- [18] RIAZ M, ZHAO S, KAMRAN M, *et al.* Effect of nano-silicon on the regulation of ascorbate-glutathione contents, antioxidant defense system and growth of copper stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 986991.
- [19] 刘晶, 张鹤婷, 殷悦, 等. 外源 H₂S 对干旱胁迫下水稻种子萌发过程淀粉酶活性的影响[J]. 热带作物学报, 2016, 37(11): 2119.
LIU J, ZHANG H T, YIN Y, *et al.* Effect of exogenous H₂S on the amylase activity of germinating rice seed subject to drought stress [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2016, 37(11): 2119.
- [20] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
WANG X K. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [21] 冯芳玖, 李静婷, 郭丹凤, 等. 年份气温差异对野生型和转 OsPIN1a 基因水稻胚乳发育及种子萌发的影响[J]. 核农学报, 2015, 29(11): 2198.
FENG F J, LI J T, GUO D F, *et al.* Effects of different air temperature in different cropping years on development of seed endosperm and germination characteristics in 'Over-expression osPIN1a' and wild type rice [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2015, 29(11): 2198.
- [22] XU J, YANG L, WANG Z, *et al.* Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain in copper contaminated soil [J]. *Chemosphere*, 2006, 62(4): 602.
- [23] 王友保, 刘登义. Cu、As 及其复合污染对小麦生理生态指标的影响[J]. 应用生态学报, 2001, 12(5): 773.
WANG Y B, LIU D Y. Effect of Cu, As and their combination pollution on eco-physiological index of wheat [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(5): 773.
- [24] 张黛静, 马建辉, 杨淑芳, 等. 硅对铜胁迫下小麦幼根细胞超微结构的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(8): 2385.
ZHANG D J, MA J H, YANG S F, *et al.* Effects of silicon on the ultrastructures of wheat radical cells under copper stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(8): 2385.
- [25] 李锋民, 熊治廷, 胡洪营. 海州香薷对铜的蓄积及铜的毒性效应[J]. 环境科学, 2003, 24(3): 30.
LI F M, XIONG Z T, HU H Y. Copper toxicity and accumulation in *Elsholtzia splendens* [J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2003, 24(3): 30.
- [26] 司江英, 赵海涛, 汪晓丽, 等. 不同铜水平下玉米细胞内铜的分布和化学形态的研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 452.
SI J Y, ZHAO H T, WANG X L, *et al.* Effects of different copper levels on subcellular distribution and chemical forms of copper in maize cells [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2): 452.
- [27] LISZKAY A, VAN DER ZALM E, SCHOPFER P. Production of reactive oxygen intermediates (O₂⁻, H₂O₂, and ·OH) by maize roots and their role in wall loosening and elongation growth [J]. *Plant Physiology*, 2004, 136(2): 3114.
- [28] YE N, ZHU G, LIU Y, *et al.* Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(5): 1809.
- [29] CHEN B X, LI W Y, GAO Y T, *et al.* Involvement of polyamine oxidase-produced hydrogen peroxide during coleorhiza-limited germination of rice seeds [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1219.