

646-550

第19卷第4期
1999年7月生态学 报
ACTA ECOLOGICA SINICAVol. 19, No. 4
July, 1999含硫、硒化合物在油菜中的积累及其对硫甙水
平的影响

5565-401

王庆仁¹, 林 葆², 李继云¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 中国农业科学院土壤肥料研究所, 北京 100081)

摘要: 温室条件下, 对硫胁迫与供硫充足的油菜植株, 分别用 L-甲硫氨酸和硒酸盐(SeO_4^{2-})代替营养液中的硫酸盐以及增加 SO_4^{2-} 供应浓度的方法, 探讨了不同处理对油菜植株硫甙合成积累的影响。结果说明, 增加供硫浓度可明显促进硫甙的合成速率, 且在 48h 内对两个供硫水平的植株皆呈密切的二次回归型递增趋势; SeO_4^{2-} 对植株硫甙的合成积累具有强烈的阻抑效应, 并对供硫充足的植株影响更大, 48h 内呈直线下降; L-甲硫氨酸具有与 SO_4^{2-} 浓度提高处理的相似效果但程度略低, 而 L-甲硫氨酸加 SeO_4^{2-} 处理对植株硫甙的合成积累具有抑制作用。

关键词: 硒酸盐; 甲硫氨酸; 油菜; 硫甙; 阻抑效应

Accumulations of sulphur and selenium compounds in oilseed rape tissues and their effects on glucosinolates content

WANG Qing-Ren¹, LIN Bao², LI Ji-Yun¹ (1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica, Beijing, 100085, China; 2. Soil and Fertilizer Inst. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 100081)

Abstract: The accumulation of sulphur and selenium containing compounds and their effects on glucosinolates in plant tissues of oilseed rape (*Brassica napus*) was investigated. To study the effects of treatments on accumulation of glucosinolates in plant tissues, L-methionine, selenate (SeO_4^{2-}) were used to replace sulphate (SO_4^{2-}) or increased SO_4^{2-} supply in the nutrient solutions used in the culture of oilseed rape seedlings with sulphur (S) stress and sufficient. The results indicated that synthetic rates of glucosinolate were significantly correlated with S supply. There was a strongly adverse effect of SeO_4^{2-} on glucosinolate accumulation. It was a more strong effect for sufficient S supplied plants, and the glucosinolate concentration was linearly decreased with time. There was a similar pattern but not so strongly by the treatment of L-methionine compared with SO_4^{2-} concentration increased. Antagonistic function to glucosinolate synthesis existed in the treatment of L-methionine plus SeO_4^{2-} .

Key words: selenate; methionine; oilseed rape; glucosinolates; adverse effects

文章编号: 1000-0933(1999)04-0546-05 中图分类号: X173 文献标识码: A

硫甙(即硫代葡萄糖甙)是十字花科植物中特有的次级代谢产物, 同时也是油菜或其他十字花科植物需硫量高的重要原因之一。然而, 目前对油菜硫甙的生物合成机理还尚知甚少, 对许多重要的代谢途径及中间产物的转化等, 现有的生理生化知识还不能作出较为圆满的解释^[1~3]。但有一点确信无疑, 即植物的硫甙含量除受遗传因素的强烈制约外, 在某种程度上还与植株的硫营养水平密切相关^[4,5]。

SO_4^{2-} 是植物通过根系可直接吸收的硫素主要形态, 其营养水平是调节植株与子粒硫甙含量的最重要因素^[6~9]。甲硫氨酸是重要的含硫氨基酸之一, 是油菜植株硫甙合成代谢中含硫有机化合物的基础原料, 可能对硫甙合成积累具促进作用。在化学性质上, 硒酸盐与硫酸盐极相似, 在根系吸收中, 因二者对某些载体

基金基目: 国家自然科学基金(39870134)资助

收稿日期: 1997-01-03; 修订日期: 1997-09-05

位有同等亲和力而产生相互竞争性抑制作用早已证明^[10]。被研究表明, SeO_4^{2-} 是植物对 SO_4^{2-} 吸收的唯一竞争性离子^[11],其吸收、运输及同化按照与 SO_4^{2-} 相同的途径进行,形成硒基半胱氨酸与硒基甲硫氨酸^[12]。

为了确证 SO_4^{2-} 及含硫氨基酸对油菜植株硫砷合成代谢的必需性,进一步探讨影响油菜硫砷合成积累的主要因素,以及通过化学手段进行植物硫砷调控的可能性途径,分别采用增加供硫水平,用甲硫氨酸或 SeO_4^{2-} 代替 SO_4^{2-} 的方法,探讨了不同处理在一定时间内对不同硫营养水平油菜植株硫砷合成积累的影响。

1 材料与方法

1.1 供试品种 甘蓝型冬油菜(*Brassica napus* L. var. *Oleifera* subvar. *biennis*)中油 821 高硫砷栽培种(子粒总硫砷含量 $>100\mu\text{mol/g}$)。

1.2 方法设计 采用温室石英砂盆栽试验,9月20日播种,每日浇灌营养液(Hewitt 配方),其中硫设置 $\text{S } 0.75\text{mmol/L}$ 及 0.075mmol/L 两个水平。温室温度为 $10\sim 28^\circ\text{C}$,三叶期疏苗,培养至50d后(5~6叶期)将幼苗取出,先用无离子水小心洗脱根部的石英砂(注意尽量不伤害根系)分别用上述相应硫浓度的营养液进行水培(平衡)24h,然后将幼苗分组并分别将根系浸入含有下列化合物之一的营养液中(除硫外,基础营养液成分及浓度不变),CK(相应硫浓度的原营养液)、L-甲硫氨酸(1mmol/L)、 SO_4^{2-} (用 Na_2SO_4 ,含 $\text{S } 1\text{mmol/L}$)、 SeO_4^{2-} (用 Na_2SeO_4 ,含 $\text{Se } 1\text{mmol/L}$)及L-甲硫氨酸加 SeO_4^{2-} (各含 1mmol/L)进行自然状态下的吸收培养试验,维持液面高度以恰好淹没根系为止,并设置3次重复。

1.3 采样与分析 分别于0.5、2.0、24及48h将幼苗按组取出,用少量无离子水冲洗后由根部剪断并将茎叶立即投入液氮(-196°C)中冷冻3h以上,然后转入 -70°C 的超低温冰箱中保存。分析前用真空冷冻($<-20^\circ\text{C}$)干燥机烘干水分。样品磨碎后分别测定植株总硫砷:酶解葡萄糖释放、3,5-二硝基水杨酸比色法;植株水溶性硫(SO_4^{2-}): 30°C 温水浸提、 BaSO_4 比浊法;植株全硒量: $3',3'$ -二氨基联苯胺比色法;植株氨基酸含量:氨基酸分析仪法。

2 结果与分析

当幼苗培养至50d时,低 $\text{S}(0.075\text{mmol/L})$ 处理植株已表现出新叶变小、狭窄、叶缘呈紫色及生长量低等典型的硫胁迫症状,而供 S 充足(0.75mmol/L)植株生长旺盛、叶色嫩绿,无任何不良症状。

2.1 对植株水溶性硫(SO_4^{2-})浓度的影响 对缺硫植株提高供硫水平后,植株硫浓度在短时间内表现骤增,0.5h即可达到对照的60%以上,这与硫胁迫植株所表现的超强吸收或“饥饿效应”有关。然后随着时间的延长, SO_4^{2-} 浓度保持平稳或略有降低,但在48h又急剧增加并达到吸收高峰(图1a)。甲硫氨酸处理表现为与 SO_4^{2-} 水平提高相似的趋势,即一定条件下油菜根系可以吸收利用甲硫氨酸并增加植株体内的 SO_4^{2-} 浓度。而 SeO_4^{2-} 处理则使植株水溶性硫(SO_4^{2-})浓度表现为持续降低(图1a)。对供硫充足植株水溶性硫(SO_4^{2-})的影响与缺硫植株有所不同,4种处理的 SO_4^{2-} 浓度皆表现为消长比较平缓(图1b),说明植株 SO_4^{2-} 浓度不会因暂时供硫水平的提高而急剧增加或因供硫中断而立刻降低,这也反映了植株体内充足的硫素对外在环境影响的缓冲能力。

2.2 植株对 SeO_4^{2-} 的吸收积累 由于 SeO_4^{2-} 与 SO_4^{2-} 化学行为的相似性,缺硫植株对 SeO_4^{2-} 的吸收累积以近乎直线的趋势上升,而对于充足供硫植株 SeO_4^{2-} 的吸收累积在24h内与对照无明显差异,但在24~48h却出现急剧增加(图2a,b)。前者表现了硫胁迫植株对竞争性离子 SeO_4^{2-} 的强烈吸收效应,而后者可能因中断供硫后在一定时间(如24h)内,植株体内仍贮有一定浓度的 SO_4^{2-} ,库强度相对较弱或对拮抗性离子 SeO_4^{2-} 的吸收运输产生一定的阻碍作用有关。

2.3 对甲硫氨酸吸收及植株其他氨基酸含量的影响 测定结果说明,植株对甲硫氨酸具有较强的吸收能力,尤其在2h时,缺硫与非缺硫植株体内的甲硫氨酸含量分别较对照高38%及47%,此后保持平稳或略有下降。提高供硫水平同样可在短时间(2h)内增加甲硫氨酸含量,但两个供硫水平植株的表现略有不同,缺硫植株在测定时间内呈持续增加趋势,而非缺硫植株则表现为起初快速增加,然后保持平稳或略有下降。这可能与植株欲维持正常生长,体内的甲硫氨酸含量必须达到一定水平有关,而 SO_4^{2-} 浓度的提高显然可以促进植株含硫氨基酸的合成与代谢。因测定,胱氨酸含量也随着硫浓度的提高明显增加并与甲硫氨酸含量呈极显著的正相关($y=0.13605+0.09547x, r=0.78, n=20$)。

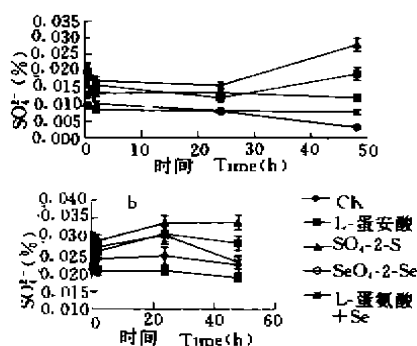


图1 不同处理对油菜植株 SO_4^{2-} 浓度的影响(1995)

Fig. 1 Effect of treatments on SO_4^{2-} concentration of oilseed rape

a. 缺硫植株 S deficient plants; b. 不缺硫植株 Non-S deficient plants.

对缺硫植株,甲硫氨酸加 SeO_3^{2-} 处理也使植株甲硫氨酸含量随处理时间的延长具有明显增加的趋势。相反, SeO_3^{2-} 处理则使甲硫氨酸含量持续下降。对非缺硫植株, SeO_3^{2-} 处理的植株甲硫氨酸含量明显低于对照,而 SeO_3^{2-} 加甲硫氨酸处理在 0.5~2.0h,植株甲硫氨酸含量明显下降,然后又出现逐渐增加的趋势。

含硫氨基酸的增减变化可能会引起植株体内其他氨基酸含量的相应改变。有报道指出,含硫氨基酸(胱氨酸+甲硫氨酸)的增加会导致作物子粒内其他氨基酸,如天冬氨酸、精氨酸及苏氨酸含量的降低^[13~17]。然而对植株氨基酸含量的影响目前尚未见报道。但对 42 个样品 17 种氨基酸的测定,随着植株体内含硫氨基酸的增加,除谷氨酸有所下降外,其他氨基酸表现平缓或略有增加(图 3)。

2.4 对植株硫甙含量的影响 与对照相比,对两种供硫水平的植株,增加供硫水平皆可促进植株硫甙的明显积累,尤其对硫胁迫植株,增加供硫水平后 2h,植株硫甙就较对照高 26%;甲硫氨酸对植株硫甙合成积累的促进效应在 24~48h 才表现出明显差异;对缺硫与非缺硫植株 SeO_3^{2-} 处理在 48h 使植株硫甙降低为零或接近于零;甲硫氨酸加 SeO_3^{2-} 处理对硫胁迫植株在 0.5~24h 可维持植株硫甙水平稳定,但在 24~48h 却急剧下降并达到零,而非缺硫植株硫甙含量与 SeO_3^{2-} 处理相似,皆表现为直线或近乎直线的下降趋势(表 1)。

表 1 结果还说明,油菜植株硫甙含量与供硫水平密切相关,并且缺硫植株增加供硫水平后,对植株硫甙合成积累的促进效应显著高于非缺硫植株。在供试因子中,植株 SO_4^{2-} 浓度是决定硫甙含量的最重要因素,因硫甙含量与植株 SO_4^{2-} 浓度呈显著的对数相关(图 4)。而随着植株含硒量的增加,硫甙含量呈对数下降(图 5)。其原因主要是,随着含硒量的不断吸收积累,植株的 SO_4^{2-} 浓度呈显著的指数下降趋势($y = 0.192e^{0.0932x}$, $r = 0.61$, $n = 22$)(图 6)。

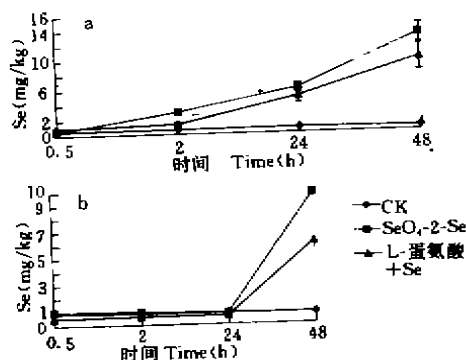


图2 硒酸盐对油菜植株硒浓度的影响

Fig. 2 Effect of SeO_3^{2-} on Se content of plant tissue in oilseed rape

a. 缺硫植株 S deficient plants; b. 不缺硫植株 Non-S deficient plants

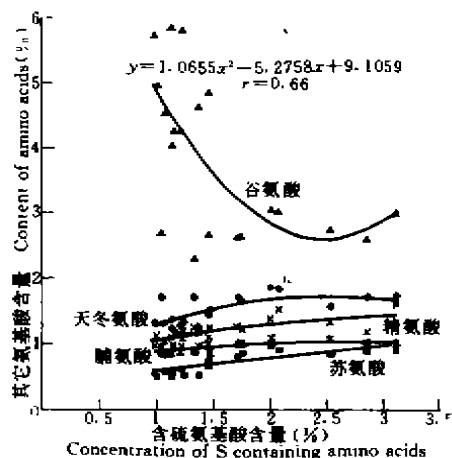


图3 油菜含硫氨基酸与其他氨基酸含量的相关

Fig. 3 Correlation between S containing and other amino acids in plant tissue of oilseed rape

3 问题讨论

对不同硫营养水平油菜增加 SO_4^{2-} 供应水平后,均表现出植株 SO_4^{2-} 的明显积累,而缺硫植株表现为短期的“饥饿效应”,这与 Marshner 1976 对小麦的研究结果相一致。甲硫氨酸处理的植株 SO_4^{2-} 浓度也较高,说明油菜根系可直接吸收利用甲硫氨酸,而且甲硫氨酸具有较强的生物活性并表现出较高的氧化能力。如与对照相比,缺硫植株在 0.5h 至少有约为 55% 的 SO_4^{2-} 是由甲硫氨酸氧化产生的。然而这一氧化速率在 2h 时已下降为 18%,24h 时低于对照,但在 48h 时又升高,达 59%。而非缺硫植株对甲硫氨酸的氧化能力相对较弱,在 2~48h 内仅有 9%~27%,说明植株的硫营养状况会影响对可利用氨基酸-甲硫氨酸的氧化能力。这与 Clarkson 等^[13]对热带豆硫同位素离体根的试验结果相吻合。

表 1 不同处理对油菜植株硫甙含量的影响

Table 1 Effect of treatment on glucosinolate contents of plant tissue in oilseed rape

供硫水平 S supply	时间 Time (mmol/l) (h)	CK	L-甲硫氨酸 L-meth- ionine	SO_4^{2-}	SeO_4^{2-}	SeO_4^{2-} + L-甲硫氨酸 SeO_4^{2-} + L-methionine
0.075	0.5	0.283	0.244	0.265	0.348	0.265
	2.0	0.303	0.303	0.382	0.324	0.303
	24	0.303	0.366	0.52	0.263	0.331
	48	0.284	0.700	0.821	0	0
	R^2		0.99	0.97	0.99	0.99
0.75	0.5	0.404	0.345	0.341	0.326	0.404
	2.0	0.416	0.385	0.426	0.248	0.366
	24	0.414	0.444	0.484	0.160	0.263
	48	0.408	0.482	0.643	0.031	0.035
	R^2		0.95	0.93	0.95	0.99

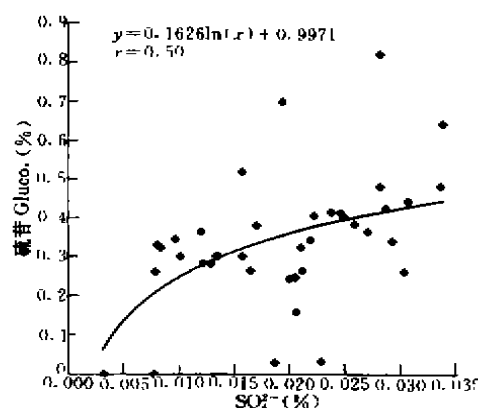


图 4 植株 SO_4^{2-} 浓度与硫甙含量散点图

Fig. 4 Scatter distribution of plant SO_4^{2-} and glucosinolates

对于一般作物,硒是有益元素,一定含量可促进作物生长,但过高不仅导致生长受阻、代谢紊乱,而且会使作物产生毒害甚至死亡。如硫胁迫植株加硒处理在 48h 时可见明显的硒毒害症状。然而,较高的 SO_4^{2-} 浓度可以在某种程度上抵御硒的毒害,因非缺硫植株相同处理并未出现任何可见的毒害症状。

对植株硫甙的合成积累,提高供硫水平与甲硫氨酸处理虽对缺硫与非缺硫植株皆有促进作用,但非缺硫植株表现平缓,可能与预处理植株的硫营养相对较充足,对硫甙合成所需硫素或含硫化合物的库源矛盾相对较弱有关,而缺硫植株则表现了较强的“激发效应”。 SeO_4^{2-} 对植株硫甙合成积累所产生的阻抑作用也因植株的硫营养水平而异,缺硫植株硫甙下降平缓,而非缺硫植株呈直线下降(见表 1)。其原因可能是供硫充

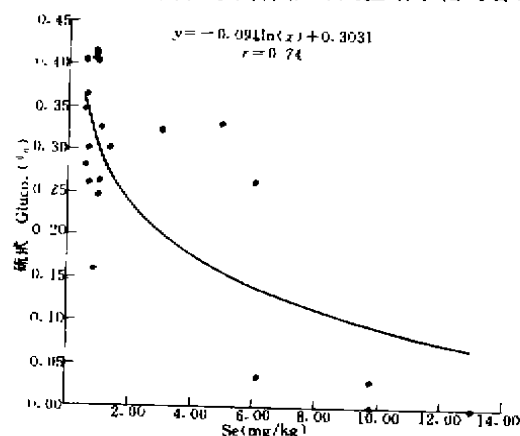


图 5 植株 Se 与硫甙浓度的相关性

Fig. 5 Correlation between Se and glucosinolate concentration of plant tissue

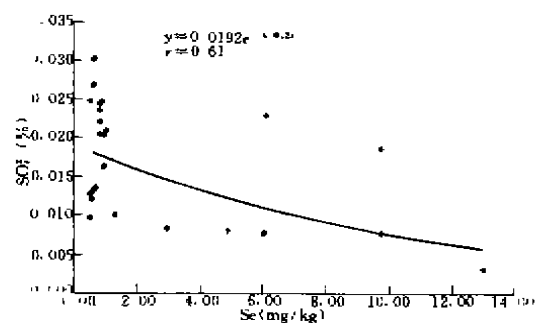


图 6 植株 Se 与 SO_4^{2-} 浓度的相关性散点图

Fig. 6 Scatter distribution of Se and SO_4^{2-} in plant tissue

足条件下,植株已积累了较高水平的硫甙,中断供硫后(用 SeO_3^{2-} 代替 SO_4^{2-}),所积累的硫甙会在芥子酶的作用下迅速水解以提供植株旺盛基础代谢(如氨基酸、蛋白质等)的硫素来源。据研究,植株硫甙具有缓解短暂硫胁迫而具有硫素储藏库的功能^[2,19~23]。

研究结果表明,甲硫氨酸虽可被油菜根系直接吸收利用,而且对植株硫甙的合成积累具有一定的促进作用,但甲硫氨酸经根系吸收后是否直接参与硫甙的合成代谢,还是经氧化分解为无机的 SO_4^{2-} 后再进入有机代谢途径,目前尚不清楚。因研究结果表明,甲硫氨酸处理确实引起植株体内 SO_4^{2-} 的积累(见图 1)。此外,甲硫氨酸加 SeO_3^{2-} 处理虽使植株 SO_4^{2-} 曾一度在非缺硫植株中积累(见图 1b),但硫甙含量却呈近乎直线的速率持续下降。原因可能主要是 SeO_3^{2-} 的存在对某些硫甙合成酶产生钝化或失活所致, SeO_3^{2-} 含量过高会导致对植株的直接毒害效应。然而,通过对油菜硫甙合成积累影响因素及其机制的进一步认识,有可能为采取化学或生物措施控制菜籽硫甙的合成积累或由植株向子粒的过度转运等提供某些有益的启示。

参考文献:

- [1] Larsen P O. Glucosinolates. In: *The biochemistry of plants*. 1981, 7:501~525.
- [2] Schnug E. Glucosinolates-fundamental, environmental and agricultural aspects. In: Rennenberg H, et al. Ed. *Sulphur nutrition and sulphur assimilation in higher plants*. 1990, 97~106.
- [3] Underhill E W. Glucosinolates. In: *Encyclopedia of plant physiology. New series, secondary plant products*. Springer-verlag, Berlin, 1980, 8:493~511.
- [4] Schnug E. Physiological functions and environmental relevance of sulphur-containing secondary metabolites phyton (Horn, Austria), special issue, sulphur metabolism. 1992, 179~190.
- [5] Nuttal W F, Ukrainetz H, Stewart J W B, et al. The effect of nitrogen, sulphur and boron on yield and quality of rapeseed (*Brassica napus* L. and *Brassica campestris* L.). *Can. J. Soil Sci.* 1987, 67:545~559.
- [6] Ramana M. Double low oilseed rape in the U. K. exharvest 1988. In: *Double low oilseed rape for the 1990's*. Semundo Cambridge, 1989, 101~122.
- [7] 中国农业科学院油料作物研究所. 中国油菜栽培学. 北京:农业出版社,1990.
- [8] Schnug E. Response of crop yield and quality to fertilization with elemental sulphur in Northern Germany. *Proc. Symp. Int Le soufre Elementaire en Agriculture, Nice France*, 1987, 1(2):553~561.
- [9] Schnug E. Double low oilseed rape in West Germany: sulphur nutrition and glucosinolate levels. *Aspects of Applied Biology* 23. Production and protection of oilseed rape and other brassica crops. 1989, 67~82.
- [10] Leggett and Epstein. In: Mengel and Kirkby(张宜春、刘同仇等译). 植物营养原理. 北京:农业出版社,1987.
- [11] Lauchli A and Bielecki R L. 张礼忠、毛知耘译. 植物的无机营养. 北京:农业出版社,1992.
- [12] Marschner H. 曹一平、陆景陵译. 高等植物的矿质营养. 北京:北京农业大学出版社,1991.
- [13] 浙江农业大学. 作物营养与施肥. 北京:农业出版社,1990.
- [14] Josefsson E and Appelquist L A. Glucosinolates in seeds of rape and turnip rape as affected by variety and environment. *J. Sci. Food and Agric.* 1968, 19:564~570.
- [15] Randall P J. Evaluation of the sulphur status of soil and plants, techniques and interpretation TSI-FAI Symposium. *Sulphur in Indian Agric. New Delhi*. 1988, 1(3):1~15.
- [16] Randall P J and Wrigley C W. Effects of sulphur supply on the yield, composition, and quality of grain from cereals, oilseeds and legumes. *Advances in cereal science and technology*. 1986, 1(8):171~206.
- [17] Zhao F, Evans E, Bilsborrow P, et al. J. Influence of sulphur and nitrogen on seed yield and quality of low glucosinolate oilseed rape(*Brassica napus* L.). *J. Sci. Food Agric.* 1993, 63: 29~37.
- [18] Clarkson D T, Smith F D and Vandenberg P T. Regulation of sulphate transport in a tropical legume, *Macroptilium atropurpureum* cv. siratro. *J. of Expt. Bot.* 1983, 34(148):1463~1483.
- [19] Juerges K. Cited by Schnug E. Glucosinolates-fundamental, environmental and agricultural aspects. In: Rennenberg H, et al. Eds. *Sulphur nutrition and sulphur assimilation in higher plants*. 1990, 97~106.
- [20] Machev N P and Schraudolph H. Biochemical relation between thiocyanide assimilation and indoleglucosinolate biosynthesis in *Sinapis Alba* L. *Proc. sec. Int. Symp. on Plant Growth Regulators*. 1977, 110~116.
- [21] Machev M P and Schraudolph H. Thiocyanate as predecessor of asparagine in *Sinapis Alba* L. *Plant Physiology*. 1978, 4: 26~33.
- [22] Schnug E. Physiological functions and environmental relevance of sulphur-containing secondary metabolites phyton (Horn, Austria), special issue, sulphur metabolism. 1992, 179~190.
- [23] Schnug E and Haneklaus S. Physiological backgrounds of different sulphur utilisation in *brassica napus* varieties. *Aspects of Applied Biology*. 1993, 34:235~242.