缓慢干旱下春小麦叶片质膜脂肪酸组成、 H^+ -ATPase 及 5'-AMPase 活力的变化

宫海军¹ 陈坤明^{1,2} 陈国仓¹ 朱学艺¹ 王锁民^{1*} 张承烈¹

(1 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000) (2 天水师范学院生物系, 甘肃天水 741001)

摘要 研究了田间缓慢干旱胁迫下, 抗旱性不同的两个小麦 (*Triticum aestivum*) 品种的生长状况、质膜极性脂脂肪酸组成以及质膜关键酶活力的变化。在小麦生长发育的早期, 干旱胁迫使其叶片质膜极性脂脂肪酸不饱和度下降、质膜微囊消耗 O_2 的速率升高、膜蛋白含量降低、 H^+ -ATPase (EC 3.6.1.35) 活力下降、5'-AMPase (EC 3.1.3.5) 活力大幅度升高; 在小麦发育的后期, 随着干旱的持续, 小麦叶片质膜的极性脂脂肪酸不饱和度不变或升高、质膜微囊消耗 O_2 的速率降低、膜蛋白含量与 H^+ -ATPase 活力升高、5'-AMPase 活力下降。以上结果表明, 小麦在发育的早期阶段对干旱较敏感, 其细胞质膜流动性降低、细胞中能荷贮备降低; 而在后期, 则又表现出对干旱的适应。这些结果将有助于阐明自然干旱条件下植物的抗旱机制。

关键词 小麦 缓慢干旱 质膜 脂肪酸 关键酶

EFFECTS OF GRADUAL DROUGHT ON THE FATTY ACID COMPOSITION OF POLAR LIPIDS, H^+ -ATPase AND 5'-AMPase ACTIVITIES IN THE PLASMA MEMBRANES OF TWO SPRING WHEAT LEAVES

GONG Hai-Jun¹ CHEN Kun-Ming^{1,2} CHEN Guo-Cang¹ ZHU Xue-Yi¹
WANG Suo-Min^{1*} and ZHANG Cheng-Lie¹

(1 School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

(2 Department of Biology, Tianshui Normal University, Tianshui, Gansu 741001, China)

Abstract Previous studies on responses of plants to drought stress were mostly performed with young plant seedlings subjected to experimental stress. Experimental stresses are usually abruptly imposed on plants. However, in the drought field, plants are subjected to gradual stress because water availability in the soil does not change quickly. Therefore, responses of plants might be different under the two stress conditions. The plasma membrane is very sensitive to drought, which causes alteration of its structure and functions. To our knowledge, few studies concerning the effects of gradual field drought on properties of the plasma membrane in the course of whole developmental stages have been published. In the present work, we took two spring wheat (*Triticum aestivum*) as materials and investigated changes in plant growth, fatty acid composition of polar lipids and activities of key enzymes in the plasma membranes of leaves under gradual field drought. Drought stress decreased water content of wheat leaves and inhibited plant growth. At early developmental stages, drought stress decreased fatty acid unsaturation of polar lipids in the plasma membranes, membrane protein content and activities of H^+ -ATPase (EC 3.6.1.35), while it increased 5'-AMPase (EC 3.1.3.5) activity and O_2 resumption by plasma membranes. At late developmental stages, with drought progressing, membrane protein content and H^+ -ATPase activities were increased by continuing drought, and fatty acid unsaturation of polar lipids in the plasma membranes was increased or not significantly changed, whereas 5'-AMPase activities and O_2 resumption by plasma membranes were decreased. These results suggest that wheat plants are sensitive to drought at early developmental stages, and the fluidity of plasma membranes as well as energy reservoirs decrease. At late stages, adaptive phenomena of plants to drought were observed. Our results might be able to help elucidate plant drought resistance under natural drought conditions.

Key words Wheat, Gradual drought, Plasma membrane, Fatty acid, Key enzymes

质膜是由具高度流动性的脂类和镶嵌在其中的 蛋白质分子组成的, 对环境胁迫极为敏感, 其结构与

功能的改变是植物对环境胁迫最初与最基本的反应(王洪春,1981)。干旱脱水可引起膜脂脂肪酸组分发生明显变化(王洪春,1981),膜结合蛋白性质改变(陈军等,1990)。然而,以往的研究结果多是以实验室培养的幼苗为材料,在快速胁迫基础上得出的,而田间土壤干旱则往往是缓慢而渐进性的,因而在这两种胁迫条件下植物的反应可能是不同的。在快速的胁迫下,植物的反应往往是应激性的,常常引起细胞组分(如细胞膜系统)的不可逆损伤(Stewart, 1989);但在田间干旱胁迫下,由于土壤中植物可利用的水分不会发生快速的变化,因而可能并不导致明显的细胞损伤,却使植物能继续耐受更严重的胁迫。Leone 等(1994)已发现在快速的渗透胁迫和缓慢的渗透胁迫下,马铃薯细胞中合成的多肽不同。虽然也有以田间干旱来研究植物细胞质膜反应的报道,但往往只注重某一阶段、且干旱胁迫持续的时间较短(Navari-Izzo *et al.*, 1993),而有关缓慢胁迫对植物整个生育阶段质膜性质影响的报道比较少见。本文以抗旱性不同的两个小麦(*Triticum aestivum*)品种为材料,研究了缓慢土壤干旱胁迫下,小麦的生长状况、叶片质膜脂肪酸组成、质膜吸收 O_2 速率、质膜 H^+ -ATPase (EC 3. 6. 1. 35) 及 5'-AMPase (EC 3.1.3.5)活力的变化,为阐明自然干旱条件下植物的抗旱机制提供参考。

1 材料和方法

1.1 植物材料与处理

选用的春小麦为抗旱品种‘定西 24’(*Triticum aestivum* cv. Dingxi 24)和不抗旱品种‘8139’(*Triticum aestivum* cv. 8139)。种子由甘肃省定西县农科所提供,于 2001 年 3 月 9 日播于兰州大学生物园中,各块地均在 2000 年入冬前充分灌水,并于播种前施足农家肥。该地土壤为黄绵土, pH 6.74, 有机质 3.01% (w/w), 全氮 0.24% (w/w), 有效磷 $99.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾 $186.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 缓效钾 $993.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。对干旱处理,以可移动式的遮雨棚遮雨,不下雨时挪开。在出苗(3 月 23 日出苗)之前,对照和干旱处理均没有浇水。出苗后对照正常浇水,而干旱处理则始终不浇水。定期监测土壤的湿度。取样分别于幼苗期(Seedling, 4 月 25 日)、拔节期(Jointing, 5 月 10 日)、抽穗期(Heading, 5 月 29 日)和灌浆期(Filling, 6 月 14 日)进行。幼苗期和拔节期时取小麦第一片完全展开的叶(自上往下),抽穗期和灌浆期时取旗叶。所有的叶片均于上午 9 时收获并迅

速固定于液氮中,以备分析。

1.2 实验方法

以常规方法分析土壤的湿度。植物叶片水势、含水量的测定及植株生长的形态观察于收获叶片的同时进行。水势以兰州大学植物生理研究室研制的 ZLZ-4 型植物水分状况测定仪测定,含水量测定采用烘干称重法。水势、含水量及叶片的长和宽均是在第一片(自上往下)完全展开的叶(幼苗期和拔节期)或旗叶(抽穗期和灌浆期)上的测定结果。参照 Qiu (1999)的两相法提纯质膜,膜纯度分析按 Widell 和 Larsson (1990)的方法,钒酸钠、硝酸钠、叠氮化钠、钼酸钠对质膜 H^+ -ATPase 水解活力的抑制率分别为 72%、2.1%、2.7% 和 5.0%,表明提取的质膜纯度很高,液泡膜、线粒体和酸性磷酸酶污染很少。根据 Brown 和 DuPont (1989)的方法提取质膜的总类脂,参照 Nichols (1964)的方法提取极性脂,按照 Brown 和 DuPont (1989)的方法进行脂肪酸组成分析。参照 Zheng 等(2000)的方法测定质膜吸收 O_2 速率。质膜 H^+ -ATPase 的水解活力测定按 Qiu (1999)的方法进行,参照潘杰等(1992)的方法测定 5'-AMPase 的活力。蛋白含量按 Bradford (1976)的方法进行。

2 结果与讨论

2.1 干旱处理与植物水分及生长状况

苗果园等(1998)观察到,小麦在收获时根系平均深达 2.7 m 多。王化岑等(2002)发现,小麦根在拔节期时深度超过 160 cm,到成熟期时可达 195 cm。由于在黄土高原区,作物生长的耗水层主要在 0 ~ 200 cm 土层内(陶毓汾等,1993),所以我们定期监测了实验地 0 ~ 200 cm 土层土壤湿度的变化,大体可以反映土壤水分随时间的动态变化。表 1 显示,随着干旱的持续,土壤表层的水分含量缓慢下降,土壤深层的水分含量变化不及表层剧烈,越往深层,干旱地与对照地之间的差异越小甚至消失。因而,在田间干旱情况下,虽然表层土壤湿度下降,但在深层仍持有较稳定的水层。显然,这与实验室内快速的胁迫不同,这种田间土壤干旱,可给予植物缓慢而渐进的胁迫条件。

缓慢干旱影响了植株的水分及生长状况。如表 2 所示,缓慢干旱使两小麦品种叶片的水势和含水量轻微下降;而且,‘定西 24’能维持稍高于‘8139’的叶片水势和含水量(表 2)。这与实验室内快速的胁迫导致植物叶片水分含量迅速而剧烈下降显著不同

表 1 缓慢干旱过程中土壤湿度的变化
Table 1 Changes of soil moisture content with gradual drought in the field (%)

深度 Depth (cm)	日期 Date											
	3 月 9 日 9 March		3 月 29 日 29 March		5 月 1 日 1 May		5 月 15 日 15 May		6 月 7 日 7 June		6 月 27 日 27 June	
	DR	CK	DR	CK	DR	CK	DR	CK	DR	CK	DR	CK
0 ~ 10	17.52	18.52	14.14	17.35	11.36	18.72	9.08	16.90	4.23	10.74	2.61	16.08
10 ~ 20	17.61	22.11	14.41	17.27	12.00	17.86	10.98	17.60	7.50	11.97	6.04	15.98
20 ~ 30	15.22	19.67	14.87	16.80	11.87	16.50	10.19	16.73	7.12	12.08	6.51	15.14
30 ~ 40	14.77	18.45	14.73	16.13	13.02	17.87	12.17	17.13	7.84	12.25	6.40	15.62
40 ~ 50	17.27	17.38	16.98	16.81	16.22	18.26	15.53	17.79	10.10	13.11	7.85	15.58
50 ~ 60	17.55	17.84	17.21	17.65	16.05	18.23	15.34	17.55	12.14	15.18	9.97	14.64
60 ~ 70	17.58	20.57	17.26	18.19	16.92	18.65	16.19	17.87	14.29	13.21	11.43	15.21
70 ~ 80	18.02	20.88	17.95	18.94	17.36	19.41	16.74	19.49	14.86	15.88	12.95	15.67
80 ~ 90	17.91	19.74	17.50	17.75	17.52	17.19	17.32	19.58	15.00	15.73	13.50	16.34
90 ~ 100	18.44	18.95	18.37	19.30	17.28	18.94	16.90	22.86	15.20	16.48	13.05	17.25
100 ~ 120	19.44	19.75	19.40	19.42	19.16	18.24	18.36	19.98	17.35	16.96	15.48	18.25
120 ~ 140	19.73	20.13	19.24	21.50	19.32	20.26	17.93	19.78	17.29	20.39	15.70	18.30
140 ~ 160	19.52	20.33	17.37	21.66	17.25	18.56	17.09	18.88	16.65	17.07	15.86	18.31
160 ~ 180	19.47	21.13	18.53	22.64	18.07	20.76	18.05	18.01	17.41	19.45	17.31	18.44
180 ~ 200	19.85	21.41	19.27	21.69	19.26	20.39	18.94	19.35	18.26	18.28	18.18	19.90

以上数值为两个土样的平均值 Values were means of two independent soil samples DR:干旱 Drought CK:对照 Control

表 2 缓慢田间干旱对小麦叶片的水分状况、叶片大小、株高及穗长的影响
Table 2 Influences of gradual drought on leaf water status, leaf size of fully expanded leaf, plant height and spike length

	日期 Date									
	4 月 25 日 25 April		5 月 10 日 10 May		5 月 19 日 19 May		5 月 29 日 29 May		6 月 14 日 14 June	
	DR	CK	DR	CK	DR	CK	DR	CK	DR	CK
'定西 24' <i>Triticum aestivum</i> cv. Dingxi 24										
水势 Water potential (- MPa)	1.47 ± 0.15	1.28 ± 0.04	1.53 ± 0.02	1.24 ± 0.03	ND	ND	1.70 ± 0.12	1.53 ± 0.06	1.94 ± 0.03	1.72 ± 0.16
含水量 Water content (%)	80.49 ± 0.51	85.87 ± 0.73	79.13 ± 1.01	82.26 ± 0.52	ND	ND	71.05 ± 1.09	75.31 ± 0.68	72.36 ± 0.88	74.52 ± 1.24
叶长 Leaf length (cm)	15.5 ± 0.7	15.2 ± 1.1	15.7 ± 1.9	21.5 ± 2.0	11.5 ± 1.0	21.6 ± 3.9	8.7 ± 2.0	29.1 ± 4.1	ND	ND
叶宽 Leaf width (mm)	5.0 ± 0.6	6.1 ± 0.5	7.2 ± 0.6	10.0 ± 1.2	7.2 ± 0.6	14.5 ± 1.1	7.1 ± 0.8	15.7 ± 1.2	ND	ND
株高 Plant height (cm)	ND	ND	ND	ND	29.5 ± 3.7	45.2 ± 3.6	39.9 ± 3.8	82.6 ± 8.3	ND	ND
穗长 Spike length (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	4.9 ± 0.4	12.0 ± 1.3
'8139' <i>Triticum aestivum</i> cv. 8139										
水势 Water potential (- MPa)	1.59 ± 0.11	1.26 ± 0.08	1.60 ± 0.02	1.25 ± 0.09	ND	ND	1.76 ± 0.08	1.48 ± 0.06	2.14 ± 0.11	1.68 ± 0.06
含水量 Water content (%)	79.33 ± 0.81	84.65 ± 0.98	78.36 ± 0.35	80.03 ± 0.82	ND	ND	70.88 ± 1.15	75.28 ± 0.58	72.11 ± 2.03	73.30 ± 1.34
叶长 Leaf length (cm)	16.9 ± 1.7	15.4 ± 0.8	15.0 ± 0.6	20.5 ± 1.2	13.1 ± 0.8	20.6 ± 1.3	10.5 ± 1.3	21.3 ± 3.5	ND	ND
叶宽 Leaf width (mm)	7.4 ± 0.7	7.1 ± 0.8	8.2 ± 0.5	10.4 ± 1.3	10.6 ± 1.1	14.3 ± 1.5	9.1 ± 0.6	15.4 ± 1.2	ND	ND
株高 Plant height (cm)	ND	ND	ND	ND	34.0 ± 3.2	49.7 ± 3.6	48.5 ± 5.9	75.0 ± 4.4	ND	ND
穗长 Spike length (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	4.6 ± 0.6	10.2 ± 1.0

水势和含水量为 3 次重复的结果,其它数据是在 8 ~ 10 个植株上测定的结果 Values of water potential or water content were calculated from three replicates, and the other data were calculated from 8 - 10 plants DR:干旱 Drought CK:对照 Control ND:未测定 Not determined

(Dekov *et al.*, 2000; Zayed & Zeid, 1997/98)。迅速干旱往往导致植物组分的不可逆损伤(Stewart, 1989),而缓慢干旱下植物叶片水分的缓慢下降有利于植物发生适应性的生理调整,因而可使植物忍耐更强的胁迫条件。干旱胁迫还使小麦的株高、穗长减小。值得注意的是,在缓慢干旱过程中,即使植株的其它大部分叶片已干枯而死,但第一片叶(自上往下)始终保持相对较好的生长状态,这一点与实验室胁迫下所有的叶子发生相当的损伤不同。可见,在缓慢干旱下,植物更多地发生的是适应性反应,可能通过调节其内部的代谢来适应干旱逆境。例如, Egert 和 Tevini (2002)对香葱(*Allium schoenoprasum*)进行干旱处理后发现,其叶绿素和可溶性蛋白含量及脂质过氧化程度均未发生变化,这与其抗氧化能力的增强有关。

2.2 干旱对小麦叶片质膜极性脂脂肪酸组成的影响

一般认为,细胞膜系统对逆境比较敏感,而质膜是细胞最外一层膜结构,因而质膜的反应是植物细胞对逆境最初与最基本的反应(王洪春, 1981)。Pastori 和 Trippi (1995)研究发现,大麦和小麦叶片以 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甘露醇处理 24 h 后,其不饱和脂肪酸与长链脂肪酸含量增加。吕金印等(1996a)发现,不抗旱的‘郑引 1 号’小麦在 -0.5 和 -1.0 MPa PEG 根际渗透胁迫 24 h 后,其根系质膜脂肪酸不饱和指数下降;而抗旱的‘陕合 6 号’在 -0.5 MPa 渗透胁迫下,脂肪酸不饱和指数下降,但在 -1.0 MPa 渗透胁迫下却上升。我们的结果与之不同:表 3 显示,小麦叶片质膜脂肪酸主要由豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、棕榈烯酸(16:1)、棕榈二烯酸(16:2)、硬脂酸(18:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)组成。在幼苗期,与对照相比,干旱处理的两个小麦品种均表现为亚麻酸含量的显著下降与豆蔻酸和棕榈酸含量的上升,且‘8139’中亚麻酸的下降幅度大于‘定西 24’,反映脂肪酸不饱和度的双键指数(Double bond index, DBI)显著降低。在拔节期,干旱使‘定西 24’的亚油酸含量稍有降低,棕榈酸含量稍有上升,但豆蔻酸含量略有下降,棕榈烯酸含量升高,脂肪酸双键指数未表现有显著的变化;而‘8139’的亚油酸和油酸含量下降、棕榈酸含量上升,双键指数下降。在抽穗期,两个小麦品种叶片质膜极性脂脂肪酸的双键指数变化均不显著,但是在‘定西 24’中,亚油酸含量有所下降,油酸和棕榈二烯酸含量有所上升;而在‘8139’中,油酸和亚油酸含量升

高,棕榈烯酸含量稍有下降。在灌浆期,脂肪酸组成的变化以棕榈酸和亚麻酸为主;在‘定西 24’中,棕榈酸含量下降,亚麻酸含量上升的幅度较大,由 57.25% 上升至 65.42%,双键指数显著升高;但在‘8139’中,脂肪酸含量基本不变。Navari-Izzo 等(1993)发现,24 龄的向日葵幼苗干旱处理 8 d 后,其叶片质膜中各种脂的不饱和度并没有发生变化,这与本实验中‘定西 24’在拔节期和抽穗期及‘8139’在抽穗期和灌浆期时观察的结果类似。这些结果表明,在作物不同发育阶段,在不同胁迫方式及强度下,细胞质膜系统对干旱的响应方式不同。

从同一发育时期脂肪酸双键指数来看,无论是干旱还是对照,‘定西 24’总是大于‘8139’,即前者的脂肪酸不饱和度总是大于后者。Pastori 和 Trippi (1995)认为,脂肪酸不饱和度与品种的抗逆性有关;崔素霞等(2000)认为,膜脂肪酸不饱和度的适度加大,与植物耐旱性有关;王洪亮等(1993)在比较同一地区的水生芦苇和沙丘芦苇(*Phragmites communis*)时亦发现沙丘芦苇有较高的亚麻酸含量,使其脂肪酸不饱和指数高于水生芦苇。我们的实验结果与之有相似之处。在小麦生长发育的前期,双键指数下降,说明此时小麦对干旱较敏感;另一方面,虽然脂肪酸饱和度增高会降低膜流动性和膜结合酶活性、提高膜相变温度,但是脂肪酸饱和度的加大,可以加大水分子通过膜的传导力(Kuiper, 1972),从而使小麦能有效地吸收和输导水分。而在小麦发育的后期,虽然干旱程度加深,但脂肪酸不饱和度基本不变或上升。这可能是由于前期的干旱锻炼使小麦在发育后期产生了对逆境的适应。

2.3 质膜蛋白含量、 H^+ -ATPase 及 5'-AMPase 活力的变化

膜蛋白是质膜的关键组分之一。由表 4 可以看出,干旱使质膜蛋白含量发生了一些变化。在幼苗期,两个品种小麦叶片的蛋白含量均显著降低,但敏感品种‘8139’下降的幅度较大(59.3%)。在拔节期,‘定西 24’的膜蛋白含量没有变化,而‘8139’则仍表现为大幅度的下降。但在发育的后期,除了‘8139’在抽穗期没有明显变化外,均表现为膜蛋白含量的升高,且抗旱品种更明显。

质膜 H^+ -ATPase 是植物细胞的“主宰酶”,在植物生长发育过程中起着重要作用(Qiu, 1999)。 H^+ -ATPase 活力的升高将有利于建立跨膜质子梯度用于 ATP 的形成、驱动次级离子或溶质的传递和控制某些与生长发育有关的过程(焦新之, 1991);而

表 3 缓慢土壤干旱过程中两个小麦品种叶片质膜极性脂肪酸组成的变化
Table 3 Effect of gradual field drought on fatty acid composition of polar lipid of plasma membranes of two spring wheat leaves

极性脂肪酸变化 Fatty acid composition		14:0	16:0	16:1	16:2	18:0	18:1	18:2	18:3	DBI
‘定西 24’ <i>Triticum aestivum</i> cv. Dingxi 24										
幼苗期 Seedling stage	DR	8.00 ± 0.57	15.56 ± 0.08	3.02 ± 0.10	2.53 ± 0.03	3.62 ± 0.17	1.34 ± 0.45	8.21 ± 0.00	57.32 ± 1.25	7.32**
	CK	5.69 ± 0.53	12.50 ± 0.69	3.40 ± 0.03	1.28 ± 0.04	2.24 ± 0.36	3.55 ± 0.85	9.66 ± 2.47	61.67 ± 1.13	10.47
拔节期 Jointing stage	DR	1.98 ± 0.16	14.87 ± 0.31	3.04 ± 0.07	0.53 ± 0.02	1.63 ± 0.11	2.32 ± 0.39	10.90 ± 0.11	64.73 ± 0.05	12.04 ^{NS}
	CK	2.92 ± 0.39	13.22 ± 0.24	2.42 ± 0.02	0.73 ± 0.40	1.74 ± 0.10	2.06 ± 0.20	12.41 ± 0.15	64.50 ± 0.43	12.54
抽穗期 Heading stage	DR	2.37 ± 0.48	13.34 ± 0.55	1.70 ± 0.49	1.57 ± 0.25	2.44 ± 0.11	4.79 ± 0.34	10.16 ± 0.18	63.65 ± 1.06	12.17 ^{NS}
	CK	2.52 ± 0.32	13.74 ± 0.38	2.07 ± 0.85	0.94 ± 0.13	1.99 ± 0.12	3.29 ± 0.52	10.78 ± 0.40	64.67 ± 0.82	12.21
灌浆期 Filling stage	DR	1.18 ± 0.23	15.57 ± 0.24	3.56 ± 0.26	0.99 ± 0.30	2.00 ± 0.10	2.47 ± 0.28	8.79 ± 0.49	65.42 ± 0.84	11.83**
	CK	0.99 ± 0.18	16.69 ± 0.34	2.76 ± 0.23	2.17 ± 1.01	4.14 ± 0.27	5.10 ± 1.25	10.89 ± 0.97	57.25 ± 1.58	9.43
‘8139’ <i>Triticum aestivum</i> cv. 8139										
幼苗期 Seedling stage	DR	10.62 ± 1.79	16.72 ± 1.00	2.92 ± 0.09	5.06 ± 1.58	5.31 ± 0.25	2.10 ± 0.46	9.84 ± 0.50	47.44 ± 2.19	5.43**
	CK	6.98 ± 0.35	13.45 ± 0.63	3.43 ± 0.20	2.05 ± 0.31	3.23 ± 0.35	2.04 ± 0.25	9.23 ± 0.06	59.60 ± 1.46	8.74
拔节期 Jointing stage	DR	2.73 ± 0.20	16.20 ± 0.13	2.96 ± 0.03	0.64 ± 0.06	1.77 ± 0.07	1.99 ± 0.15	11.10 ± 0.10	62.62 ± 0.29	10.45*
	CK	3.50 ± 0.12	13.09 ± 0.48	3.09 ± 0.01	1.09 ± 0.16	2.36 ± 0.18	2.55 ± 0.01	11.79 ± 0.13	62.52 ± 0.13	11.55
抽穗期 Heading stage	DR	1.83 ± 0.17	16.78 ± 1.26	1.53 ± 0.40	1.42 ± 0.35	2.28 ± 0.03	2.56 ± 0.11	11.61 ± 0.32	61.99 ± 1.57	10.35 ^{NS}
	CK	1.31 ± 0.69	16.83 ± 1.40	2.97 ± 0.09	1.32 ± 1.14	2.99 ± 0.53	1.75 ± 0.50	9.75 ± 0.13	62.71 ± 0.61	10.18
灌浆期 Filling stage	DR	1.55 ± 0.32	18.69 ± 0.43	2.00 ± 0.29	2.13 ± 0.25	3.93 ± 0.17	2.68 ± 1.03	9.48 ± 0.56	59.55 ± 2.81	8.55 ^{NS}
	CK	1.19 ± 0.37	17.36 ± 0.50	2.79 ± 0.50	1.87 ± 0.23	4.81 ± 0.97	3.58 ± 0.62	10.74 ± 0.76	57.67 ± 1.28	8.76

以上结果为 3 次重复的平均值 Values were obtained from three replicates * : $p < 0.05$ ** : $p < 0.05$ DR: 干旱 Drought CK: 对照 Control
NS: 无显著差异 No significant difference DBI (双键指数 Double bond index): $[1 \times \% \text{ Monenes (单烯)} + 2 \times \% \text{ Dienes (双烯)} + 3 \times \% \text{ Trienes (三烯)}] / [\% \text{ Saturated fatty acid (饱和酸)}]$

5'-核苷酸酶(5'-AMPase)是质膜的标志酶,其功能之一是协同质膜 ATPase 参与 ATP 代谢和细胞间物质运输与转换,提供动力等(邵艳军等,2000)。因而,测定这两种酶活力有助于了解细胞的能荷状态。邱全胜等(1994)以 20% PEG-6000 处理小麦根系 10 h 后发现,质膜 H⁺-ATPase 活力升高;邵艳军等(2000)以 PEG-6000 胁迫处理抗旱性不同的两个品种小麦愈伤组织 24 h 后发现,10% 浓度使其质膜 H⁺-ATPase 活力降低,但 20% 浓度却使其活力升高。吕金印等(1996b)则发现以 -0.5 MPa 和 -1.0 MPa PEG 对抗旱性不同的两种小麦幼苗进行根际处理 24 h,抗旱品种的根质膜 H⁺-ATPase 活力在两种渗

透势下均增加,但不抗旱品种的活力则下降。我们的结果(表 4)显示,干旱胁迫下,两种小麦叶片质膜 H⁺-ATPase 均在幼苗期下降,且‘8139’下降的幅度要大于‘定西 24’。在拔节期之后,‘定西 24’ H⁺-ATPase 的水解活力均受干旱的刺激而升高;‘8139’在拔节期时的 ATPase 活力仍因干旱胁迫而降低,但抽穗期之后,其活力受干旱的刺激而上升。这是由于干旱刺激了 ATPase 磷酸酶区的水解活力的缘故(待发表数据)。可见,干旱胁迫对植物质膜 H⁺-ATPase 活性的影响不仅与植物品种和胁迫强度有关,还与胁迫持续时间和作物发育阶段有关。

关于质膜标志酶 5'-AMPase 的研究较少。自从

表 4 缓慢土壤干旱下小麦叶片质膜蛋白含量、质膜微囊吸收 O₂ 速率、H⁺-ATPase 及 5'-AMPase 活力的变化
Table 4 Changes of PM protein content, oxygen uptake rate by plasma membrane, H⁺-ATPase and 5'-AMPase activities of plasma membrane during gradual field drought

	发育时期 Developmental stage							
	幼苗期 Seedling stage		拔节期 Jointing stage		抽穗期 Heading stage		灌浆期 Filling stage	
	DR	CK	DR	CK	DR	CK	DR	CK
'定西 24' <i>Triticum aestivum</i> cv. Dingxi24								
蛋白含量 Protein content (mg·g ⁻¹ DW)	0.069 ± 0.005	0.137 ± 0.011	0.116 ± 0.030	0.120 ± 0.020	0.163 ± 0.010	0.106 ± 0.005	0.156 ± 0.003	0.129 ± 0.002
H ⁺ -ATPase 活性	0.641 ± 0.021	0.822 ± 0.004	0.972 ± 0.029	0.724 ± 0.040	1.422 ± 0.017	0.701 ± 0.019	0.973 ± 0.020	0.675 ± 0.011
H ⁺ -ATPase Activity (μmol Pi·mg ⁻¹ Pr·min ⁻¹)								
O ₂ 吸收速率	0.472 ± 0.042	0.296 ± 0.008	0.380 ± 0.024	0.395 ± 0.034	0.371 ± 0.006	0.411 ± 0.022	0.291 ± 0.018	0.305 ± 0.015
O ₂ uptake rate (μmol·mg ⁻¹ Pr·min ⁻¹)								
5'-AMPase 活性	1.904 ± 0.077	1.213 ± 0.069	0.766 ± 0.023	0.925 ± 0.050	0.281 ± 0.015	0.531 ± 0.030	0.076 ± 0.008	0.167 ± 0.003
5'-AMPase activity (μmol Pi·mg ⁻¹ Pr·min ⁻¹)								
'8139' <i>Triticum aestivum</i> cv. 8139								
蛋白含量 Protein content (mg·g ⁻¹ DW)	0.046 ± 0.030	0.113 ± 0.020	0.038 ± 0.001	0.075 ± 0.02	0.074 ± 0.003	0.070 ± 0.005	0.111 ± 0.004	0.088 ± 0.003
H ⁺ -ATPase 活性	0.595 ± 0.013	0.831 ± 0.025	0.516 ± 0.080	0.828 ± 0.065	1.054 ± 0.009	0.693 ± 0.023	0.924 ± 0.012	0.691 ± 0.023
H ⁺ -ATPase activity (μmol Pi·mg ⁻¹ Pr·min ⁻¹)								
O ₂ 吸收速率	0.559 ± 0.021	0.299 ± 0.022	0.470 ± 0.016	0.254 ± 0.024	0.250 ± 0.012	0.307 ± 0.010	0.186 ± 0.001	0.238 ± 0.004
O ₂ uptake rate (μmol·mg ⁻¹ Pr·min ⁻¹)								
5'-AMPase 活性	4.504 ± 0.069	1.404 ± 0.031	1.631 ± 0.038	0.789 ± 0.022	0.531 ± 0.046	0.660 ± 0.015	0.122 ± 0.038	0.152 ± 0.011
5'-AMPase activity (μmol Pi·mg ⁻¹ Pr·min ⁻¹)								

数值为 3 次重复的结果 Values were obtained from three replicates DR: 干旱 Drought CK: 对照 Control Pr: 蛋白质 Protein

潘杰等(1992)发现在水稻细胞质膜上有 5'-AMPase 分布并表明其与水稻的抗冷性有关后,邵艳军等(2000)发现该酶参与了植物对水分胁迫的反应,并参与细胞内的 ATP 代谢。在本实验的干旱条件下,质膜 5'-AMPase 活力的变化基本上与 ATPase 的变化趋势相反。5'-AMPase 活性在前期的大幅度升高将增加 ATP 的分解,但‘定西 24’的升高幅度小于‘8139’,因而有助于干旱胁迫下 ATP 的合成和减少 ATP 的分解。而在发育后期,其活力受干旱的影响而下降,这将有利于植物细胞在逆境条件下贮藏一定量的能荷。在干旱胁迫下,5'-AMPase 活力的这种大幅度变化是否还有其它的功能,尚有待于进一步探讨。

2.4 干旱对小麦叶片质膜微囊 O₂ 消耗速率的影响

质膜具有许多生理功能,如铁还原、电子传递、信号传导等(Zheng *et al.*, 2000)。跨膜电子转运在细胞生长过程中起着重要的作用(Misra, 1991)。在电子转运的过程中,消耗氧气(以 NAD(P)H 为电子供体),同时伴随着活性氧自由基的产生,结果导致膜损伤(Osswald *et al.*, 1992)。因此,消耗氧气的速率越快,膜损伤的可能性就越大。表 4 中显示了干旱胁迫下小麦叶片质膜吸收 O₂ 速率的变化。在幼苗期,两个小麦品种叶片质膜吸收 O₂ 的速率均明显升高,‘定西 24’升高 60%,而‘8139’则升高 87%。

拔节期时,‘8139’的质膜吸收 O₂ 的速率仍因干旱胁迫而大幅度升高,但对应的‘定西 24’则未表现出明显变化。而在小麦发育的后期(抽穗和灌浆期),两个小麦品种叶片质膜吸收 O₂ 的速率均下降。活性氧自由基可引起膜脂过氧化,使膜上的蛋白质发生变性或降解(沈漫等,1997)。以上这些结果与脂肪酸的测定结果(表 3)相一致。可见,在小麦发育的前期,干旱使质膜产生了大量的活性氧自由基,损伤了质膜、引起膜脂过氧化,使膜脂不饱和度下降、膜蛋白含量降低;而在发育后期,活性氧产量下降将降低膜脂与膜蛋白的损伤程度(表 3,表 4)。

总之,在小麦生长发育的早期,植株对干旱较为敏感,表现在质膜极性脂脂肪酸不饱和度下降、膜蛋白含量及能荷贮备的降低;但随着干旱的持续,膜脂不饱和度、质膜蛋白含量升高及维持较高的能荷状态则表现出明显的干旱忍耐。这些结果与前人在以受快速胁迫的植物幼苗上观察到的结果不同,即在田间土壤干旱下,植物所受的胁迫往往是缓慢而渐进式的,表现出适应性反应。因而,以田间缓慢干旱来研究植物的反应将有助于了解自然干旱胁迫下植物的抗旱机制。

参 考 文 献

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248

- ~ 254.
- Brown, D. J. & F. M. DuPont. 1989. Lipid composition of plasma membranes and endomembranes prepared from roots of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology*, **90**: 955 ~ 961.
- Chen, J. (陈军) & W. L. Gu (顾慰连). 1990. Effect of drought on permeability and fatty acid composition of membrane lipid in leaves of *Zea mays*. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), **6**: 39 ~ 41. (in Chinese)
- Cui, S. X. (崔素霞), W. Wang (王蔚), G. C. Chen (陈国仓) & C. L. Zhang (张承烈). 2000. Seasonal changes of endogenous phytohormones, fatty acid composition of chloroplast membrane and enzymes of membrane-lipids antioxidation system in two desert plants. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), **24**: 96 ~ 101. (in Chinese with English abstract)
- Dekov, I., T. Tsonev & I. Yordanov. 2000. Effects of water stress and high-temperature stress on the structure and activity of photosynthetic apparatus of *Zea mays* and *Helianthus annuus*. *Photosynthetica*, **38**: 361 ~ 366.
- Egert, M. & M. Tevini. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany*, **48**: 43 ~ 49.
- Jiao, X. Z. (焦新之). 1991. Transport system in the cell membranes of higher plants. In: Yu, S. W. (余叔文) ed. *Plant physiology and molecular biology*. Beijing: Science Press. 99 ~ 111. (in Chinese)
- Kuiper, P. J. G. 1972. Water transport across membranes. *Annual Review of Plant Physiology*, **23**: 157 ~ 172.
- Leone, A., A. Costa, M. Tucci & S. Grillo. 1994. Comparative analysis of short- and long-term changes in gene expression caused by low water potential in potato (*Solanum tuberosum*) cell-suspension cultures. *Plant Physiology*, **106**: 703 ~ 712.
- Li, J. Y. (吕金印) & J. F. Gao (高俊凤). 1996a. Effects of water stress on plasma membrane permeability and compositions in wheat roots. *Agricultural Research in the Arid Areas* (干旱地区农业研究), **14**: 96 ~ 100. (in Chinese with English abstract)
- Li, J. Y. (吕金印) & J. F. Gao (高俊凤). 1996b. Effects of water stress on plasma membrane H^+ -ATPase activity and H^+ extrusion in wheat roots. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **16**: 101 ~ 106. (in Chinese with English abstract)
- Miao, G. Y. (苗果园), J. Yin (尹钧), Y. T. Zhang (张云亭) & A. L. Zhang (张爱良). 1998. Study on root growth of main crops in North China. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), **24**: 1 ~ 6. (in Chinese with English abstract)
- Misra, P. C. 1991. Transplasma membrane electron transport in plants. *Journal of Bioenergy and Biochemistry*, **14**: 191 ~ 205.
- Navari-Izzo, F., M. F. Quartacci, D. Melfi & R. Izzo. 1993. Lipids composition of plasma membranes isolated from sunflower seedlings grown under water-stress. *Physiologia Plantarum*, **87**: 508 ~ 514.
- Nichols, B. W. 1964. Separation of plant phospholipids and glycolipids. In: James, A. T. & L. J. Morris eds. *New biochemical separations*. London: D. van Nostrand Co. Ltd. 321 ~ 337.
- Osswald, W. F. R., S. Hippeli, B. Benz, R. Volpert & E. F. Elstner. 1992. Comparison of the enzymatic activities of dehydroascorbic acid reductase, glutathione reductase, catalase, peroxidase and superoxidase and superoxide dismutase of healthy and damaged spruce needles (*Picea abies* (L.) Karst.). *Journal of Plant Physiology*, **139**: 741 ~ 748.
- Pan, J. (潘杰), L. H. Sun (孙龙华) & L. C. Jian (简令成). 1992. Biochemical and cytochemical study on the $5'$ -nucleotidase of plasma membrane from two kinds of rice with different cold-resistance. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), **7**: 653 ~ 656. (in Chinese)
- Pastori, G. M. & V. Trippi. 1995. Fatty acid composition in water- and oxygen-stressed leaves of maize and wheat strains. *Phytochemistry*, **40**: 45 ~ 48.
- Qiu, Q. S. 1999. Characterization of p-nitrophenyl phosphate hydrolysis by plasma membrane H^+ -ATPase from soybean hypocotyls. *Journal of Plant Physiology*, **154**: 628 ~ 633.
- Qiu, Q. S. (邱全胜), L. Li (李琳), H. G. Liang (梁厚果) & X. Z. Jiao (焦新之). 1994. Effect of water stress on the redox system of the plasma membrane of wheat roots. *Acta Physiologica Sinica* (植物生理学报), **20**: 145 ~ 151. (in Chinese with English abstract)
- Shao, Y. J. (邵艳军), G. M. Li (李广敏), G. C. Huang (黄国存) & C. Y. Xin (辛春艳). 2000. Effect of water stress on the activity of PM-ATPase and $5'$ -AMPase of common winter wheat. *Agricultural Research in the Arid Areas* (干旱地区农业研究), **18**: 93 ~ 97. (in Chinese with English abstract)
- Shen, M. (沈漫), M. X. Wang (王明麻) & M. R. Huang (黄敏仁). 1997. Advances in research on chilling-resistance mechanisms of plants. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **14**: 1 ~ 8. (in Chinese with English abstract)
- Stewart, G. R. 1989. Desiccation injury, anhydrobiosis and survival. In: Jones, H. G., T. J. Flowers & M. B. Jones eds. *Plants under stress*. Cambridge: Cambridge University Press. 115 ~ 130.
- Tao, L. F. (陶毓汾), L. X. Wang (王立祥) & S. F. Han (韩仕峰). 1993. Water production potential and development in arid areas of North China. Beijing: Meteorology Press. (in Chinese)
- Wang, H. C. (王洪春). 1981. Plant stress-resistant physiology. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), **17**: 72 ~ 81. (in Chinese)
- Wang, H. C. (王化岑), W. D. Liu (刘万代) & C. Y. Wang (王晨阳). 2002. Study on the growth of wheat roots and their vertical distribution. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), **18**: 6 ~ 7, 29. (in Chinese)
- Wang, H. L. (王洪亮) & C. L. Zhang (张承烈). 1993. Comparative investigation on plasmalemma properties of different reed ecotypes in Hexi corridor. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **35**: 533 ~ 540. (in Chinese with English abstract)
- Widell, S. & C. Larsson. 1990. A critical evaluation of markers used in plasma membrane purification. In: Larsson, C. L. & I. M. Moller eds. *The plant plasma membrane*. Berlin: Springer-Verlag. 16 ~ 43.
- Zayed, M. A. & I. M. Zeid. 1997/98. Effect of water and salt stresses on growth, chlorophyll, mineral ions and organic solutes contents, and enzymes activity in mung bean seedlings. *Biologia Plantarum*, **40**: 351 ~ 356.
- Zheng, H. L., Z. Q. Zhao, C. G. Zhang, J. Z. Feng, Z. L. Ke & M. J. Su. 2000. Changes in lipid peroxidation, the redox system and ATPase activities in plasma membranes of rice seedling roots caused by lanthanum chloride. *Biometals*, **13**: 157 ~ 163.