

CO₂倍增环境生长的小麦幼苗对 盐胁迫的生理反应*

408-412

S512.101

刘家尧 衣艳君 白克智 梁 峥
(曲阜师范大学生物系 曲阜 273165) (中国科学院植物研究所 北京 100093)

摘要 研究了 CO₂倍增/盐胁迫对不同抗盐性冬小麦幼苗有机干重, K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺含量, 脯氨酸水平及蛋白质变化的效应。表明两种小麦生长在150mmol/L NaCl下, 其有机干重, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺含量下降, 而 Na⁺明显升高; CO₂倍增可增加小麦有机干重, 使一价阳离子 K⁺, Na⁺含量升高, 二价阳离子 Ca²⁺, Mg²⁺呈下降趋势, 同时有利于游离脯氨酸的积累, 并为植物进行渗透调节提供大量的碳源。150mmol/L NaCl可降低普通小麦蛋白质含量, CO₂倍增具提高蛋白质含量的效应, 而 CO₂倍增/NaCl胁迫对抗盐小麦蛋白变化影响不明显, 但 CO₂倍增/NaCl胁迫明显改变了两种小麦蛋白质的组成, 指出 CO₂倍增可提高小麦的耐盐能力, 减轻盐胁迫的毒害效应, 提高作物产量。

关键词: CO₂倍增, 盐胁迫, 小麦, 离子含量, 脯氨酸, 蛋白质变化。

THE PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF WHEAT SEEDLINGS TO SALT STRESS UNDER ELEVATED ATMOSPHERIC CONCENTRATIONS OF CO₂

Liu Jiayao Yi Yanjun

(Department of Biology, Qufu Normal University, Qufu, Shandong, 273165, China)

Bai Kezhi Liang Zheng

(Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing, 100093, China)

Abstract The effect of doubled CO₂/salt stress on the organic dry weight, contents of K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, proline level and the changes of content and composition of protein were investigated in two wheat varieties with different salt tolerance. The organic dry weight and K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ contents in two wheat seedlings grown in 150mmol/L NaCl decreased comparing with the controls while Na⁺ level increased. Under doubled CO₂, the organic dry weight and K⁺, Na⁺ levels rose, but Ca²⁺, Mg²⁺ levels fell. Moreover, doubled CO₂ concentration was able to enhance proline accumulation and provide carbon source for osmoregulation. The protein content of salt-sensitive wheat was decreased by 150mmol/L

* 国家自然科学基金重大项目, 国家攀登计划和山东省自然科学基金资助。

* 本工作得到中国科学院植物研究所单际修博士的帮助, 特此致谢。

收稿日期: 1997-07-23。

NaCl and elevated by doubled CO₂. CO₂/salt had little or no effect on the change of protein in salt-tolerance wheat, while the composition of protein in two wheat varieties were significantly changed by doubled CO₂/salt stress. Data suggest that elevated CO₂ concentration might increase the capacity of salt tolerance and production in wheat.

Key words: doubled CO₂, salt stress, wheat, ion content, proline level, protein change.

在我国1亿公顷耕地中有1/10为次生盐渍化土壤^[1],世界上灌溉区35%耕地受到盐胁迫的威胁^[2],可见盐胁迫是影响植物生长和作物产量的重要因子。由于人类的活动,大气CO₂浓度逐年增加,预计下个世纪中叶将倍增至700μmol/L^[3]。许多实验表明,盐胁迫下,CO₂浓度增加可刺激植物的生长,减轻盐度对植物的毒害效应^[4~6],对于盐胁迫对植物的伤害^[7~8],以及盐胁迫/CO₂倍增对植物生长、光合速率、呼吸作用的影响等方面已有不少报道^[6,9~11],但CO₂倍增对盐胁迫所造成的植物离子毒害、低膨压等生理过程的效应研究不多,为此本文研究了CO₂倍增条件下盐胁迫对不同抗盐性小麦幼苗有机物干重、K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺含量、脯氨酸水平及蛋白质变化的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料的培养及处理

实验材料为冬小麦(*Triticum aestivum* L.)普通品种“CA-8686”和抗盐品种“石中5号”(种子由中国科学院新疆分院生物土壤研究所惠赠),种子浸泡5h,放入培养皿,种子露白后播于培养缸中自然条件下砂基培养,每天浇灌1/2Hoagland培养液,幼苗长至三叶期移至中国科学院植物研究所植物园内开顶式培养室^[12],对两个小麦品种分别进行以下处理:(1)对照室通入正常空气(1×CO₂,CO₂浓度为350μmol/L),盐处理为0.150mmol/L NaCl;(2)CO₂倍增室(2×CO₂,CO₂浓度为700μmol/L),盐处理同对照室。在自然条件下(培养室昼夜温度30±1℃/19±1℃,昼夜相对湿度70%/85%)培养6d分别取样分析。

1.2 有机干重的测定

新鲜小麦叶片,用无离子水冲洗后,吸干表面水分,称重,放入80℃烘箱烘至恒重,烘干样品磨碎后称取0.1g置坩锅中,在马弗炉中550℃灰化,冷却,称重,有机干重=干重-灰分重。

1.3 离子含量的测定

将灰化好的样品用浓硝酸溶解并定容,用塞曼原子吸收光谱仪(日立Z-8000)测定样品中K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺含量。

1.4 脯氨酸含量测定

用酸性茚三酮比色法^[13]测定。

1.5 蛋白质提取、含量测定及电泳

蛋白质提取在4℃下进行。-20℃冰冻的1g小麦叶片,加2ml研磨介质(50mmol/L Tris(pH7.4),0.2mmol/L蔗糖,10mmol/Lβ-巯基乙醇)研磨,10000×g离心15min,取上清液按Bradford^[14]方法在岛津190型双光束分光光度计上测定蛋白含量,以BAS作标准。上清液经(NH₄)₂SO₄盐析,收集50%~70%部分蛋白,透析过夜,用SDS水解后,在Mini电泳系统(Bio-Rad产品)按骆爱玲等^[15]方法进行10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后进行CBB染色。

2 结果和讨论

2.1 CO₂倍增条件下,盐胁迫对小麦幼苗有机物干重的效应

由图1可知,无论在正常大气CO₂还是在CO₂倍增条件下,两个小麦品种的生长都明显地被150mmol/L NaCl所抑制,普通小麦幼苗的有机物干重比对照分别降低了34.6%和25.2%,抗盐小麦分别降低了29.8%和21.7%,可以看出,150mmol/L NaCl对抗盐小麦的抑制程度小于普通小麦,且在CO₂倍增条件下抑制程度较小,而两个小麦品种在无NaCl和有NaCl胁迫时,CO₂倍增均能提高植物有机物干重,且这种效应在盐处理植株(提高19%)比无盐处理植株(提高7%~10%)明显。环境中CO₂浓度的提高,可增加植物叶面

积和 RUBP 羧化底物,提高光合速率,增加光合产物的合成,改善水分状况,提高水分利用率,提供充足的有机物质,以弥补由于植物忍耐盐胁迫而造成的有机物质的消耗^[4,10,11,16~18],因而 CO₂倍增可促进植物生长,提高植物的耐盐能力,减轻盐胁迫的毒害效应。

2.2 CO₂倍增条件下,盐胁迫对小麦叶片离子水平的影响

无论在 CO₂倍增还是在正常空气的 CO₂浓度环境中,150mmol/L NaCl 可使两种小麦叶片 Na⁺含量明显增加,抗盐小麦增加幅度小于普通小麦,而 K⁺、Ca⁺⁺、Mg⁺⁺含量则下降(表1)。Na⁺大量进入细胞会对细胞产生离子毒害,且破坏了质膜透性,使营养离子 K⁺及 Ca⁺⁺、Mg⁺⁺等外渗,影响细胞的一些代谢生理活动,从而抑制植物生长。从表1还可看出,CO₂浓度增加能使小麦叶片一价阳离子 K⁺、Na⁺含量升高,二价阳离子 Ca⁺⁺、Mg⁺⁺含量呈下降趋势,这种 K⁺、Na⁺含量的升高与 Nicolas 等^[5]在小麦实验中 Na⁺变化相似。一价阳离子含量的升高在于盐胁迫下,CO₂使植物气孔传力下降,通过减少水分损失来改善叶片水分状况,并依靠液泡中 K⁺、Na⁺、Cl⁻进行渗透调节,维持叶片较高膨压^[11,19],Ca⁺⁺、Mg⁺⁺含量下降,在雀麦^[20]实验中也是类似的结果。这可能是由于 CO₂升高时使植物产生的高碳水化合物含量的稀释作用^[21]和一价阳离子的吸收使二价离子 Ca⁺⁺等被 Na⁺交换出来,使其含量下降^[3]。

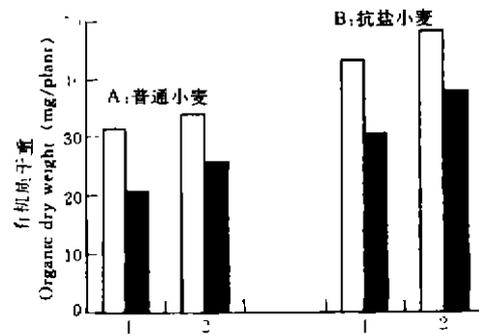


图1 CO₂倍增条件下盐胁迫对小麦幼苗有机干重的效应

□ 0mmol/L NaCl, ■ 150mol/L NaCl
Fig. 1 The effect of salt stress on organic dry weight of wheat seedlings under doubled CO₂
1, 1×CO₂; 2, 2×CO₂
A, Salt-sensitive wheat; B, Salt-tolerant wheat

表1 CO₂倍增条件下盐胁迫对小麦幼苗离子含量的影响

Talbe 1 The Effect of salt stress on the ion contents in wheat seedlings under doubled CO₂ concentraion

品种 Species	处理 Treatment		离子含量 Ion contents			
	CO ₂ 状况 CO ₂ status	NaCl 浓度(mmol/L) NaCl concentration	K ⁺	Na ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺
普通小麦 Salt-sensitive wheat	1×CO ₂	0	44.83	0.20	4.32	3.26
		150	42.77	11.52	4.11	3.15
	2×CO ₂	0	50.18	1.22	4.28	3.14
		150	45.43	13.98	3.66	2.95
抗盐小麦 Salt-tolerant wheat	1×CO ₂	0	49.78	1.41	4.86	3.34
		150	47.64	5.98	2.36	2.96
	2×CO ₂	0	52.41	1.60	4.71	3.28
		150	49.73	7.59	3.17	2.90

2.3 CO₂倍增条件下,盐胁迫对小麦叶片脯氨酸含量的影响

从小麦(石中5号)叶片脯氨酸含量测定结果(图2)可知,150mmol/L NaCl 可使抗盐小麦叶片积累脯氨酸,而 CO₂倍增也可提高叶片脯氨酸水平。在盐胁迫下,植物体内要合成和积累一些无毒渗透物质来进行渗透调节,以避免由于无机离子积累过多对植物的伤害,在盐胁迫下植物体内一些正常蛋白质合成被抑制^[22],且分解加快,产生大量的游离氨基酸,同时 NaCl 阻止脯氨酸的氧化,使其合成加强,致使脯氨酸积累^[1],另外,盐胁迫下植物要形成和维持溶质势而进行渗透调节时要消耗能量,体内合成脯氨酸要与植物生长竞争相当一部分碳源^[23],CO₂浓度增加可促进植株光合作用,使碳水化合物形成增加,因而 CO₂倍增能提供植物充足的碳源,利于植株合成和积累脯氨酸。

2.4 CO₂倍增和盐胁迫对小麦幼苗蛋白质状况的影响

由图3可以看出,150mmol/L NaCl 明显降低普通小麦蛋白质含量,正常空气 CO₂浓度下降低了31.5%,而 CO₂倍增有提高蛋白含量的效应(此时盐度只降低了蛋白含量70%左右),表明 NaCl 抑制普通小麦蛋白的合成,CO₂倍增有增加其合成的趋势,这种变化可能是由于盐度阻止氨基酸(如亮氨酸等)形成蛋白质和破坏核糖体^[24]而影响蛋白质的合成,CO₂浓度增加可提高光合强度,从而增加蛋白质的合成,同时抑制 Rubisco 与 CO₂的亲合力,降低光呼吸和减少蛋白质的消耗。与普通小麦比较,CO₂倍增/NaCl 胁迫对抗盐小麦可溶性蛋白质影响不明显(图3)。但无论是抗盐与普通小麦,CO₂倍增/NaCl 胁迫明显改变了蛋白质的组成(图4),从图4可以看出,CO₂倍增/NaCl 胁迫能使两种小麦中一些蛋白质含量下降(如图4中,第一条带,第二条带),同时也能诱导一些蛋白质的合成,使其含量增加,这种诱导作用在普通小麦被 NaCl 胁迫时某些蛋白质

(如第2条带)较为明显。这种组成改变可能原因有3:(1)蛋白质降解为小分子量多肽;(2)通过呼吸作用,即离同化于异化过程中^[25]而合成;(3)基因表达产物。三者单独或相互共同起作用。在各种胁迫情况下,出现的新蛋白质可能是通过这3种途径产生,但在具体胁迫条件下,要了解是哪一种起作用 and 如何起作用,情况和机制可能十分复杂,还需做大量工作,才能明了,但这对加深 CO₂/盐冲击的作用的认识是十分重要的。

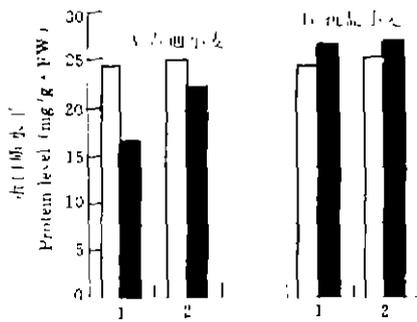


图3 CO₂倍增条件下盐胁迫对小麦幼苗蛋白质水平的影响

Fig. 3 The effect of salt stress on protein level in wheat seedlings under double CO₂

从以上 CO₂倍增条件下小麦幼苗对盐度的生理反应可以看出,CO₂倍增可提高作物的耐盐能力,从各种代谢反应上减轻盐胁迫的伤害效应,有利于提高作物产量。

参 考 文 献

- 1 赵可夫编著. 植物抗盐生理. 北京:中国科学技术出版社,1993. 1~189
- 2 Epstein E, Norlyn J O, Rush D W. *et al.* Saline culture of crops: a genetic approach. *Science*, 1980, 210: 399~404
- 3 Anther J S. Respiration in a future, higher-CO₂ world. *Plant, Cell Environ.* 1991, 14: 13~20
- 4 刘家尧, 衣艳君, 白克智等. CO₂/盐冲击对小麦呼吸酶活性的影响. *植物学报*, 1996, 38(8): 641~646

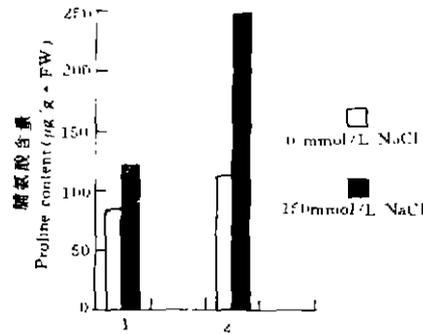


图2 CO₂倍增条件下盐胁迫对小麦(石中5号)幼苗脯氨酸含量的影响

Fig. 3 The effect of salt stress on proline content in wheat (Shuzhong 5) seedlings under doubled CO₂

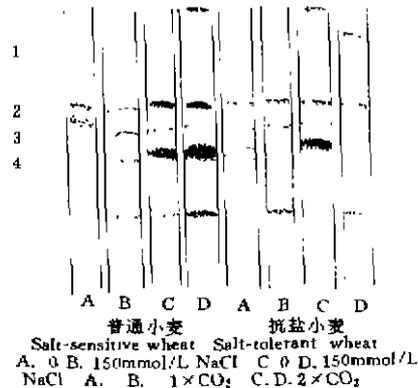


图4 CO₂倍增/NaCl 胁迫对不同抗盐性小麦叶片蛋白质组成的影响

Fig. 4 Effects of doubled CO₂/NaCl stress on the composition of protein in leaves of wheat with different salt tolerance

- 5 Ball M C, Munns R. Plant responses to salinity under elevated atmospheric concentrations of CO₂. *Aust J. Bot.*, 1992, 40: 515~525
- 6 Schwarz M, Gale J. Growth response to salinity at high levels of carbon dioxide. *Journal of Experimental Botany*, 1984, 35: 193~196
- 7 Greenway H, Munns R. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 1980, 31: 149~190
- 8 Seeman J R, Critchley C. Effects of salt stress on growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species *Phaseolus vulgaris*. *Planta*, 1985, 164: 151~162
- 9 Wulff R D, Strain B R. Effects of CO₂ enrichment on growth and photosynthesis in *Desmodium paniculatum*. *Can J. Bot.*, 1982, 60: 1084
- 10 Ryle G J A, Powell C E, Tewson V. Effect of elevated CO₂ on the photosynthesis, respiration and growth of *Perennial regrass*. *J Exp Bot.*, 1992, 43: 811~818
- 11 Bowman W D, Strain B R. Interaction between CO₂ enrichment and salinity stress in the C₄ non-halophyte *Andropogon glomeratus* (walter) BSP. *Plant, Cell Environ.*, 1987, 10: 267~270
- 12 丁 莉, 钟泽琰, 李世仪等. CO₂倍增对紫花苜蓿碳、氮同化与分配的影响. *植物学报*, 1996, 38(1): 83~86
- 13 赵可夫, 李明亮, 刘家尧. 不同类型盐生植物脯氨酸含量测定. *曲阜师大学报(植物抗盐生理专刊)*, 1984
- 14 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantites of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem.*, 1976, 72: 248~252
- 15 骆爱玲, 王继伟, 李佳格. 一种简便快速的蛋白质免疫印渍法介绍. *植物学通报*, 1995, 12(2): 63~64
- 16 许大全. 光合作用及其有关过程对长期高 CO₂浓度的响应. *植物生理学通讯*, 1994, 20(2): 81~87
- 17 Footer H, Gifford R M, Kriedemann P E. *et al.* A quantitative analysis of dark respiration and carbon content as factors in the growth response of plant to elevated CO₂. *Aust J Bot.*, 1992, 40: 501~513
- 18 Farrar J F, Williams L. The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperature on carbon partitioning source-sink relations and respiration. *Plant, Cell Environ.*, 1991, 41: 819~830
- 19 Gorham J, Wyn Jones R G, McDonnell E. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant and Soil*, 1985, 89: 15~40
- 20 Larigauderie A, Hilbert D W, Oechel W C. Effect of CO₂ enrichment and nitrogen availability on resource acquisition and resource allocation in a grass. *Bromus mollis*. *Oecologia*, 1988, 77: 544
- 21 Porter M A, Grodzinski B. Growth of bean in high CO₂; Effects on shoot mineral composition. *J Plant Nutrition*, 1989, 12: 129
- 22 钱永常, 余叔文. 植物中的逆境蛋白. *植物生理学通讯*, 1989, 5: 5~11
- 23 徐云岭, 余叔文. 植物适应盐逆境过程中的能量消耗. *植物生理学通讯*, 1990, 6: 70~73
- 24 Passera C, Albuzio A. Effect of salinity on photosynthesis and photorespiration of two wheat species. *Can J. Bot.*, 1978, 56: 121~126
- 25 汤佩松. 高等植物呼吸代谢途径的调节控制和代谢与生理功能间的相互制约. *植物学报*, 1979, 21(2): 93~106