

干旱胁迫下不同抗旱性小麦叶片内源激素含量的变化 与抗旱力强弱的关系

贺继临* 刘鸿先

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘要 以抗旱性强的小麦品种昌乐5号和抗旱性弱的鲁麦5号的幼苗为材料, 研究了随着干旱胁迫的加剧, 小麦叶片相对含水量、气孔导度和内源激素水平的变化。结果表明, 叶片的气孔导度和细胞激动素与脱落酸含量的比值(CTKs/ABA)呈较强的线性正相关关系而与叶片RWC的相关关系较弱, 说明气孔导度受CTKs/ABA调控, 而不是受叶片RWC的调控。在不同强度的干旱胁迫下我们可以利用CTKs/ABA的变化判断品种抗旱性大小: ①抗旱力强的小麦品种叶片的平均CTKs/ABA值较高, 而弱者较低, 说明强者内源促进型激素含量相对较高, 从而在干旱胁迫下保持较高的生活力。②抗旱力强的小麦品种叶片CTKs/ABA与干旱处理天数呈二次负相关关系, 而弱者呈线性负相关关系, 说明强者具有较强的抗逆缓冲能力。③抗旱力强的小麦品种成熟叶(第二叶)CTKs/ABA下降快, 新叶(第三叶)下降慢, 而弱者反之, 说明抗旱性强者可能存在着较强的从成熟叶向新叶的物质运输从而具有自我保护性调节机制。

关键词 干旱处理; 小麦; 植物内源激素

中图分类号 S512.1

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE CHANGES OF ENDOGENOUS HORMONES CONTENT AND THE DROUGHT RESISTIBILITY IN LEAVES OF WHEAT DURING DROUGHT

He Jilin Liu Hongxian

(South China Institute of Botany, Academic Sinica, Guangzhou 510650)

Abstract Changes of leaf relative water content(RWC), stomatal conductance and levels of endogenous hormones were investigated in seedling leaves of wheat cultivars with different drought-resistance under different drought stress conditions. The results showed that there was a stronger positive linear correlation between the stomatal conductance and the ratio of cytokinins to ABA (CTKs/ABA), while a weaker correlation was observed between stomatal conductance and leaf RWC, indicating the stomatal conductance was controlled by CTKs/ABA, not by the leaf RWC. The changes of CTKs/ABA in leaves might be used as an indicator to estimate the drought-resistant ability among wheat cultivars under the different drought stress conditions. It can be done as follows: ① the average CTKs/ABA value in leaves of the more resistant cultivar was higher than the less resistant

one or sensitive one, indicating that the former had a higher ratio of promotive hormones, so that it could keep stronger vitality during drought stress; ② the more resistant cultivar showed a negative quadratic correlation between its leaf CTKs/ABA and drought treatment days, while the less resistant one showed a negative linear correlation, indicating the former had a higher buffer ability for stress resistance; ③ the decline of CTKs/ABA value in mature leaf (the second leaf) of the more resistant cultivar was faster than that in young leaf (the third leaf), while the opposed trend was found in sensitive one, this implied that a mechanism of material transport from mature leaves to young leaves might operate obviously in drought resistant cultivars for self-protective regulations.

Key words Drought treatment; Wheat; Plant endogenous hormones

干旱是我国小麦主要产地产量的主要限制因素, 发掘抗旱小麦种质一直是人们努力方向。鉴定抗旱性强弱的指标不外是形态和生理指标^[1], 其中在干旱胁迫下内源激素的变化一直是衡量抗旱力的生理指标之一, 但不同研究者的结果却不尽相同甚至相互矛盾。人们早已发现在干旱过程中植物内源激素 CTKs 和 ABA 发生变化^[2,3], 并认为两者的平衡作用在干旱适应中至关重要^[4]。有人发现气孔是对植物激素变化最敏感的部位, 并研究了脱落酸 (ABA)^[5] 和细胞激动素 (CTK)^[6] 对气孔开闭的影响。同时发现气孔导度在叶片水分下降之前就发生了明显的变化^[7], 因此认为影响气孔变化的因素来自根^[8]。Gowing 等^[9] 著名的分根实验以及 Wang 等^[10] 的不定根切除实验对此作出了肯定的回答并进一步证实这种影响因素是来自根中的 ABA 和 CTKs。Passioura^[11] 证明生长在干旱土壤中的小麦幼苗叶片的生长也受这种根信号控制。Lu^[12] 曾引用一些人的文章证明在干旱胁迫下, 小麦叶片中 ABA 含量提高, 而且抗旱品种积累的 ABA 较多, 从而能够刺激气孔关闭, 减少蒸腾缓解旱情。但 Munns 等^[13] 发现, 在缺水的小麦汁液中 ABA 浓度未见明显提高。本文报道了冬小麦在干旱胁迫下叶片相对含水量、气孔导度和内源激素水平的变化以期找出它们之间的相互关系, 从而为激素在干旱下的化学调控机理研究提供进一步论据。还比较了不同抗旱品种的差异, 为小麦抗旱种质筛选提供依据。

1 材料和方法

材料和处理 以二种抗旱性不同的小麦品种 (*Triticum aestivum*) 昌乐 5 号 (Changle 5) 和鲁麦 5 号 (Lumai 5) 的幼苗为材料。二种小麦的抗旱系数, 即干旱处理植株籽粒产量与浇灌对照处理之比, 分别为 0.62 和 0.43, 品种间抗旱性有显著差异^[14]。种子经消毒和吸胀后, 在 25 °C 温箱中催芽。发芽种子播种在盛有砂土的塑料盆中, 浇水至田间持水量。每日以 1/2 Hoagland 溶液浇灌一次, 待三叶期时停止灌水使其自然干旱。培养室中气温 29.5–30 °C, 日间光照 10–12 h, 光强 500–800 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 空气相对湿度 68–79%。以刚完全伸展的新叶 (第三叶) 和叶片完全伸展后两周的成熟叶 (第二叶) 取样进行测定, 重复三次。

测定方法 叶片相对含水量 (RWC) 采用烘干称重法测定, 气孔导度 (Cs) 利用 LI-6200 便携式光合分析系统进行测定, 叶片激素含量采用酶联免疫法 (ELISA) 测定^[15]。以上所得数据利用 Microsoft Excel 7.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 干旱处理下小麦幼苗叶片相对含水量(RWC)的变化

叶片RWC ($Y, \%$) 与干旱处理天数(X)的关系对于二个品种以及它们各自的新叶和成熟叶是不同的: “昌乐5号”新叶为 $Y = -0.2125X^2 + 1.2012X + 95.92$, $r = -0.914$, $p < 0.01$, 成熟叶为 $Y = -0.1792X^2 - 0.9295X + 96.66$, $r = -0.908$, $p < 0.01$; “鲁麦5号”新叶为 $Y = -3.974X + 93.386$, $r = -0.906$, $p < 0.01$, 成熟叶为 $Y = -2.4377X + 94.208$, $r = -0.933$, $p < 0.01$ (图1)。可见, 抗旱性强的“昌乐5号”的新叶RWC下降慢(在0-12 d内从95.92%降到79.73%), 而成熟叶RWC下降快(从96.66%降到59.70%); 抗旱性弱的“鲁麦5号”反之, 其新叶下降快(在0-12 d内从93.39%降到45.70%), 成熟叶RWC下降慢(从94.21%降到64.96%)。单从新叶看, 抗旱性强的品种叶片RWC的下降(79.73%)较抗旱性弱的品种(45.70%)慢, 而从成熟叶看则反之, 抗旱性强的品种(59.70%)较抗旱性弱的品种(64.96%)快。但从二品种新叶和成熟叶RWC的平均值看, 干旱处理开始时(0 d)差别不大(约在95%左右), 但到了干旱处理后期(第12天)差别加大; “昌乐5号”(69.72%) > “鲁麦5号”(55.33%), 仍是抗旱品种叶片RWC下降慢。

2.2 干旱处理下小麦幼苗叶片气孔导度(Cs)的变化

气孔导度($Y, \text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)与干旱处理天数(X)的关系对于二个品种以及它们各自的新叶和成熟叶是不同的: “昌乐5号”新叶为 $Y = -0.0033X^2 + 0.0194X + 0.3094$, $r = -0.93$, $p < 0.01$, 成熟叶为 $Y = -0.0083X^2 + 0.0293X + 0.3121$, $r = -0.89$, $p < 0.01$; “鲁麦5号”新叶为 $Y = -0.0378X + 0.3007$, $r = -0.90$, $p < 0.01$; 成熟叶为 $Y = -0.0303X + 0.3075$, $r = -0.90$, $p < 0.01$ (图2)。可见, 抗旱性强的“昌乐5号”的新叶Cs下降慢(从0 d的0.31降到第12天的0.07), 而成熟叶Cs下降快(从0 d的0.31降到第8天为零); 抗旱性弱的“鲁麦5号”反之, 其新叶下降快(从0 d的0.30降到第8天为零), 成熟叶Cs下降慢(从0 d的0.30降到第10天为零)。单从新叶

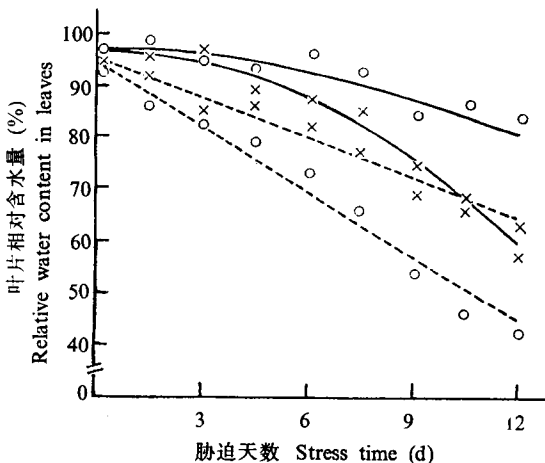


图1 不同干旱处理天数的小麦叶片相对含水量(RWC)的变化
Fig. 1 Changes of relative water content in wheat leaves during different treatment days

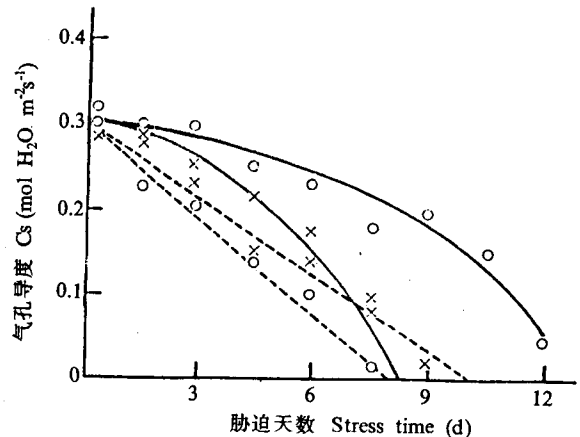


图2 不同干旱处理天数的小麦叶片气孔导度(Cs)的变化
Fig. 2 Changes of stomatal conductance in wheat leaves during different treatment day

— 昌乐5号, Changle 5; ---- 鲁麦5号, Lumai 5; ○ 新叶 Young leaves; × 成熟叶 Mature leaves

图3-5同, Same for Figs. 3-5.

看, Cs 下降是抗旱性强的品种 (12 d 为 0.07) 较抗旱性弱的品种 (8 d 为零) 慢, 而从成熟叶看则相反, 抗旱性强的品种 (8 d 为零) 下降较抗旱性弱的品种 (10 d 为零) 快。但从二个品种新叶和成熟叶 Cs 的平均值看, 干旱处理开始时 (0 d) 差别不大 (约在 0.31 左右), 但到了干旱处理后期 (如第 7 天) 差别加大; “昌乐 5 号” (0.20) > “鲁麦 5 号” (0.07), 仍是抗旱性强的品种的 Cs 下降慢。

2.3 干旱处理下小麦幼苗叶片细胞激动素 (CTKs) 和脱落酸 (ABA) 的变化

随着干旱加剧, CTKs 含量下降, 并且二品种的新叶和成熟叶的下降速度不一样, 表现为抗旱性强的品种成熟叶下降快于抗旱性弱的品种的成熟叶, 而新叶变化则相反 (图 3)。

随着干旱加剧, 抗旱性强的品种 ABA 含量上升, 并且成熟叶较新叶快, 而抗旱性弱的品种变化不大, 并且成熟叶和新叶没有差别 (图 4)。

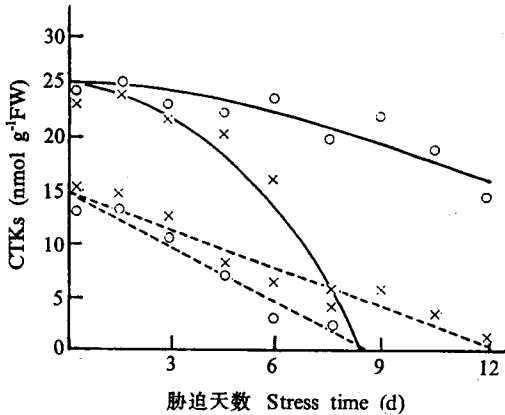


图 3 不同干旱处理天数的小麦叶片 CTKs 的变化
Fig. 3 Changes of cytokinins in wheat leaves during different treatment days

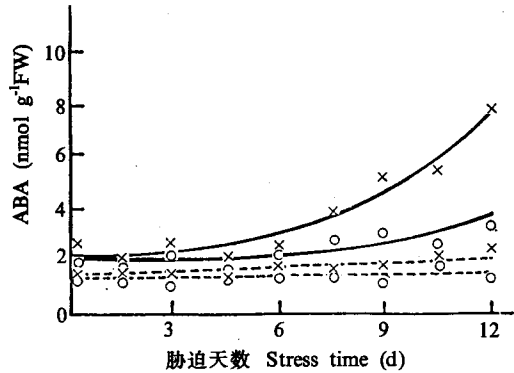


图 4 不同干旱处理天数的小麦叶片 ABA 的变化
Fig. 4 Changes of ABA in wheat leaves during different treatment days

2.4 干旱处理下小麦幼苗叶片 CTKs/ABA 的变化

CTKs/ABA (Y) 与干旱天数 (X) 的关系对于二个品种以及它们各自的新叶和成熟叶是不同的: “昌乐 5 号” 新叶为 $Y = -0.0821X^2 + 0.054X + 9.6294$, $r = -0.94$, $p < 0.01$, 成熟叶为 $Y = -0.2227X^2 + 0.8491X + 9.7755$, $r = -0.87$, $p < 0.01$; “鲁麦 5 号” 新叶为 $Y = -1.096X + 10.012$, $r = -0.90$, $p < 0.01$, 成熟叶为 $Y = -0.824X + 10.008$, $r = -0.87$, $p < 0.01$ 。抗旱性强的“昌乐 5 号”新叶的 CTKs/ABA 下降慢 (从 0 d 的 9.63 降到第 12 天的 3.87), 而成熟叶 CTKs/ABA 下降快 (从 0 d 的 9.76 降到第 9 天约为零); 抗旱性弱的“鲁麦 5 号”反之, 其新叶下降快 (从 0 d 的 10.01 降到第 9 天为零), 成熟叶 CTKs/ABA 下降慢 (从 0 d 的 10.01 降到第 12 天的 0.12)。由图 5 可见, 单从新叶看, CTKs/ABA 下降是抗旱性强的品种 (12 d 为 3.87) 较抗旱性弱的品种 (9 d 为零) 慢, 而从成熟叶看反之, 抗旱性强的品种 (9 d 为零) 较抗旱性弱的品种 (12 d 为 0.12) 快。但从二品种新叶和成熟叶 CTKs/ABA 的平均值看, 干旱处理前 (0 d) 差别不大 (约在 9.95 左右), 但到了干旱后期 (如第 7 天) 差别加大; “昌乐 5 号” (6.98) > “鲁麦 5 号” (3.29), 仍是抗旱品种的 CTKs/ABA 下降慢。另外, 从 CTKs/ABA 的值降到零的时间来看, 成熟叶: “昌乐 5 号” (约 9 d) < “鲁麦 5 号” (约 12 d); 而新叶则相反: “昌乐 5 号” (约 15 d) > “鲁麦 5 号” (约 9 d)。

2.5 干旱处理下小麦幼苗叶片气孔导度(Cs)与叶片RWC, CTKs/ABA的关系

将图2与图1的结果进行统计分析后发现: 相对应的叶片的Cs与叶片RWC的相关关系较弱, 且没有共同的相关关系, 将图2和图5的结果进行统计分析后得到图6。

由图6可见, “昌乐5号”的叶片, 新叶和成熟叶一致, Cs和CTKs/ABA都呈线性正相关: $Y=0.0401X-0.067$, $r=0.86$, $p<0.01$; “鲁麦5号”亦是如此: $Y=0.0395X-0.081$, $r=0.83$, $p<0.01$ 。可见相对应的叶片的Cs和CTKs/ABA的相关关系较强, 且对于同一品种其新叶和成熟叶具有共同的相关关系, 由此得出叶片Cs是受叶片CTKs/ABA调控的, CTKs/ABA的变化影响和反映了叶片Cs的变化, 并且同一品种不同发育时期的叶片Cs和CTKs/ABA的关系相同, 这样植物内部生理变化(CTKs/ABA)和外部表现(Cs)有机地联系起来。另外, 虽然抗旱性强的品种的斜率(0.0401)和抗旱性弱的品种的斜率(0.0395)差别不大, 但抗旱性强的品种的截距(-0.067)大于抗旱性弱的品种的截距(-0.081), 说明抗旱性强的品种的Cs对CTKs/ABA的变化反应敏感。

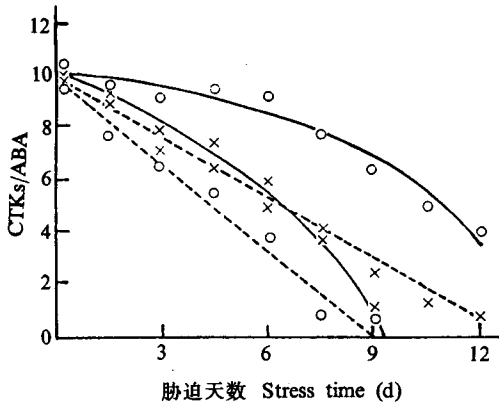


图5 不同干旱处理天数的小麦叶片 CTKs/ABA 的变化
Fig. 5 Changes of CTKs/ABA in wheat leaves during different treatment days

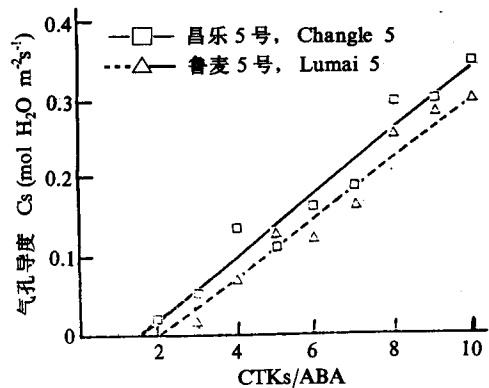


图6 干旱处理下小麦叶片Cs与CTKs/ABA的关系
Fig. 6 The relationship between stomatal conductance and CTKs/ABA in wheat leaves during drought

3 讨论

到目前为止, 关于气孔开闭模式的认识可以认为经历了三个阶段: 最早提出物理模式, 认为随着土壤水分供应的减少, 叶片水势及膨压下降从而导致气孔关闭, 但有很多证据表明在叶片水分下降之前气孔就已经关闭^[7]。后来提出化学模式, 认为土壤水分亏缺促使根合成抑制气孔开放的ABA, 阻止根合成促进气孔开放的CTKs, 使得气孔关闭, 但有些情况下并未发现有明显的ABA含量的变化^[13]。最近有人提出相互作用模式^[16], 试图将干旱引起的地下部激素含量变化与地上部气孔对激素敏感性结合起来解释气孔开闭。我们的工作证明: (1) 在干旱处理下, Cs与叶片RWC相关性较弱(图1、2), 说明了物理模式的局限性; (2) 由CTKs和ABA含量变化(图3、4)难以说明植物在干旱过程中的生理变化规律以及植物抗旱力强弱, 说明了化学模式仍有其局限性; (3) 叶片Cs的状态是受CTKs和ABA共同影响的(CTKs/ABA), 二者呈显著的线性正相关关系(图2、5、6)。在干旱处理下, 由不同抗旱品种以及它们各自的成熟叶和新叶

CTKs/ABA 的变化, 可以得出几条判断抗旱力大小的标准: ① 抗旱力强的品种的平均叶片 CTKs/ABA 较高, 而弱者较低, 说明强者内源促进型激素相对量高, 从而保持较高的生活力。② 抗旱力强的品种的叶片 CTKs/ABA 与干旱处理天数呈二次负相关关系, 而弱者呈线性负相关关系, 说明强者具有较强的抗逆缓冲能力。③ 抗旱力强的品种的成熟叶 CTKs/ABA 下降快, 新叶下降慢, 而弱者反之, 并且出现抗旱力弱的品种的成熟叶反而比抗旱性强的品种的成熟叶衰老慢的情况(虽然从新叶和成熟叶的平均值看仍是抗旱性强的品种叶片衰老慢)。说明强者可能存在着较强的从成熟叶向新叶的水分和物质运输, 从而表现出一种自我保护性调节机制。以上判断抗旱力强弱的标准尚未见有报道, 尤其是第三条表明在判断抗旱力强弱时, 不仅要考虑品种、干旱程度等, 同时还要考虑到所测部分的发育状态。如果所测样本仅是成熟叶或仅是新叶或是两者的非等量叶样(计算时又未加权), 结论会不同甚至相反, 这一点可能是以往结果如此不同的原因之一。

参考文献

- 1 周桂莲, 杨慧霞. 小麦抗旱性鉴定的生理生化指标及其分析评价. 干旱地区农业研究, 1996, 14(2):65-71
- 2 Itai C, Vaadia Y. Kinetin-like activity in root exudate of water stressed sunflower plants. *Physiol Plant*, 1965, 18: 941-944
- 3 Quarrie S A, Jones H G. Effect of abscisic acid and water stress on development and morphology in wheat. *J Exp Bot*, 1977, 28:182-203
- 4 Davies W J, Metcalf J, Lodge T A et al. Plant growth substances and the regulation of growth under drought. *Aust J Plant Physiol*, 1986, 13:105-125
- 5 Mansfield T A. Hormones as regulators of water balance. In: Davies S T ed. *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*. Martionus Nijhoff Publishers, 1987, 411-430
- 6 Luke H H, Freeman T E. Stimulation of transpiration by cytokinins. *Nature*, 1968, 215:873-874
- 7 Turner N C, Schulze ED, Gollan T. The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content, II. in the mesophytic herbaceous species *Helianthus annuus*. *Oecologia*, 1985, 65:348-355
- 8 Meinzer F C, Grantz D A. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant Cell Environ*, 1990, 13:383-388
- 9 Gowing G, Davies W J, Jones H G. A positive root-sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus × domestica* Borkh. *J Exp Bot*, 1990, 41:1535-1540
- 10 Wang Y Y, Zhou R, Zhou X. Endogenous levels of ABA and cytokinins and their relation to stomatal behavior in dayflower(*Commelina communis* L.). *J Plant Physiol*, 1994, 144:45-48
- 11 Passioura J B. Root signals control leaf expansion in wheat seedlings growing in drying soil. *Aust J Plant Physiol*, 1988, 15:687-693
- 12 Lu D B. Increasing stress resistance by *in vitro* selection for abscisic acid insensitivity in wheat. *Crop Sci*, 1989, 29(4):939-943
- 13 Munns R, King R W. Abscisic acid is not the only stomatal inhibitor in the transpiration stream. *Plant Physiol*, 1988, 88:703-708
- 14 李德全, 邹琦, 程炳嵩等. 冬小麦抗旱生理特性的研究. 作物学报, 1993, 19(2):125-132
- 15 吴颂如, 陈婉芬, 周燮. 酶联免疫法(ELISA)测定内源植物激素. 植物生理学通讯, 1988, (5):53-57
- 16 Davies W J, Tardieu F, Trejo C L. How do chemical signals work in plants that grow in drying soil? *Plant Physiol*, 1994, 104:309-314