

# 水分胁迫与植物氮代谢的关系

## I. 水分胁迫对小麦叶片氮代谢的影响

张殿忠 汪沛洪

(基础课部)

### 摘 要

本文以冬小麦品种渭麦4号为材料,综合研究了水分胁迫对其氮代谢的影响。结果表明,水分胁迫使小麦叶片硝酸还原酶活性显著降低,而蛋白酶、肽酶和核糖核酸酶活性却显著增强,致使蛋白质和RNA分解加剧,含量降低,并且总氮、游离氨基酸含量及其组分也发生了变化。DNA含量则不受土壤含水量高于萎蔫点的水分胁迫影响。

**关键词:** 水分胁迫, 氮代谢, 小麦

关于水分胁迫与植物氮代谢关系的研究已有大量报道<sup>[1]</sup>。由于研究所采用的方法、材料、缺水的时期、程度及速度等不尽相同,所得结果难以相互比较和作为指导旱区生产的依据。特别是许多作者以一种或数种材料来研究某个氮化物在缺水时的变化,未能把同一材料的一些主要氮化物联系起来加以研究。因此,也就不能对缺水植物的氮代谢有一个系统完整的认识。据此,本文结合我国西北旱区土壤缺水缺肥的特点,研究水分胁迫对小麦苗叶片内一些主要氮化物代谢的影响,期望对缺水小麦苗体内的氮代谢有一个整体的和相互联系的认识,以便在此基础上探讨减缓水分胁迫,增强植物抗旱性的措施。

### 1 材料和方法

试验材料为冬小麦品种渭麦4号。催芽后播种于25cm×23.5cm的塑料盆中。土壤最大持水量为40.6%,萎蔫系数为10.7%(相对含水量26.4%);全氮含量为327ppm,速效氮为87ppm。试验设对照和缺水两个处理,重复四次。

播种后维持土壤相对含水量在60~65%之间。麦苗5叶期,控制缺水处理土壤相对含水量每隔5天约降低10%(每天定时称量,若水分散失多,则按指标补水),待接近萎蔫点时立即复水至对照水平,并观察其恢复情况。为便于比较供试样品均为同等长度心叶下第1,2两片展开叶。上午8~9时取样。

总氮和蛋白质含量用自动克氏定氮仪测定。游离氨基酸总量及其组分分别用茚三酮显色法和121MB型氨基酸自动分析仪测定。

总核酸和DNA含量,分别用紫外吸收法( $\lambda = 260\text{nm}$ )和二苯胺显色法( $\lambda = 600\text{nm}$ )测

本文于1987年11月26日收到。

本文曾在1987年9月召开的国际旱地农业学术讨论会上交流。

定,二者之差即为RNA含量。硝酸还原酶(NR)活性用活体法测定。

核糖核酸酶(RNase)活性测定是以酵母RNA为底物,反应液与对照液于MPS-5000型多用分光光度计紫外区扫描,以二者峰值处(260nm)光密度值差换算成核苷酸量(比消光系数(0.032)),并测定样品蛋白质含量,以此计算RNase活性。

蛋白酶和肽酶活性测定是利用内源蛋白质作底物,将反应液与对照液过滤后,沉淀部分用克氏定氮法测定蛋白氮,滤液部分用茚三酮显色法测定氨基酸氮。反应液与对照液的蛋白氮之差和氨基酸氮之差分别为蛋白酶和肽酶作用的物质量,并以对照液的蛋白质量作为计算这两种酶活性的基础。

以上四种酶活性和核酸含量用鲜样测定,蛋白质、总氮、游离氨基酸总量及其各组分含量均用NR活性测定中剩余鲜样的烘干样测定。

## 2 结果与分析

试验期间,土壤和小麦叶片相对含水量变化如图1所示。小麦叶片因具有渗透调节作用,其含水量并非随土壤含水量同步下降。同时也表明渗透调节具有一定的限度。然而在此限度之内,植株的氮代谢已受到显著影响。

### 2.1 水分胁迫对小麦叶片总氮含量的影响

图2表明,在轻度水分胁迫时,上部叶片总氮含量增加了13.1%。此时也观察到受旱植株下部叶片较对照失绿变黄来得早、快,可能是因为下层叶片已接近衰老,水分胁迫又加快了其衰老进程。实际上在叶片可见症状出现之前,含氮大分子的水解就已发生,并将其水解产物外运<sup>[2]</sup>。因此,上部叶片总氮含量增加可能是下部叶片含氮大分子降解而引起的氮素重新分配的结果。然而,随着水分胁迫加剧,上部叶片总氮含量又下降,说明该层叶片已严重受旱,便由轻度水分胁迫时可溶性氮化物的接受部位转变为输出部位。

复水后,叶片总氮含量又快速增加,先是超过对照,尔后恢复到对照水平,这说明叶片总氮含量的变化确实与植物的水分供应有关。

### 2.2 水分胁迫对小麦叶片蛋白质代谢的影响

如图3所示,叶片蛋白质含量具有同总氮含量一致的变化趋势。在轻度水分胁迫(土壤相对含水量50%)时,上部叶片蛋白质含量稍有增加,这可能是因为该层叶片水分状况还未恶化,且又积累了大量可溶性氮化物(如游离氨基酸,参见图6),于是促进了某些蛋白质的合成。但是,随着水分胁迫加剧,叶片蛋白质含量又显著下降,在严重水分胁迫时降至对照的

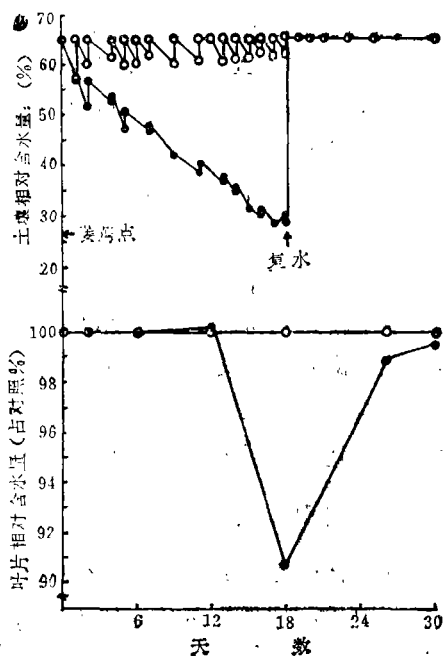


图1 土壤和小麦叶片相对含水量变化  
○—○对照; —●—缺水

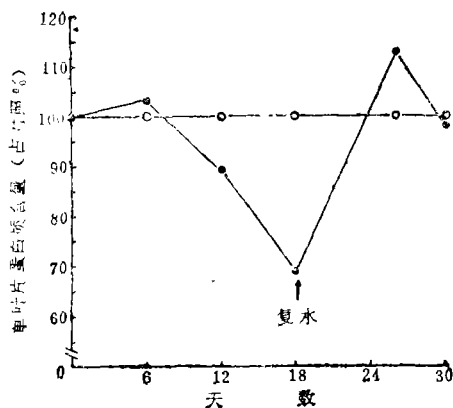


图2 缺水对小麦叶片总氮量的影响

○—○对照; —·—·缺水

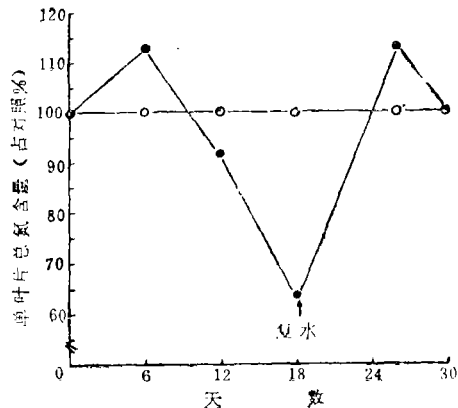


图3 缺水对小麦叶片蛋白质含量的影响

○—○对照; —·—·缺水

70%。此时, 对照与缺水处理的叶片蛋白酶活性分别为3.835和5.591毫克氮·克蛋白<sup>-1</sup>·小时<sup>-1</sup> ( $t=12.63^{**}$ ,  $t_{0.01}=3.71$ )。可见, 水分胁迫引起蛋白质含量下降是因为增强了蛋白酶的活性, 加速了蛋白质的水解作用。

复水后, 蛋白质同总氮一样其含量增加, 并在一定时间内超过对照, 似乎是对水分胁迫期间蛋白质含量下降的一种补偿反应。这表明水分胁迫能够导致蛋白质代谢异常, 且在复水后恢复较快。

比较初始水分胁迫和复水后两次总氮和蛋白质的增加量可以看出, 两次总氮增量相似 (分别为13.1%和12.9%), 而两次蛋白质增量 (分别为3.14%和12.97%) 却差别较大。这说明初始水分胁迫时虽然上部叶片蛋白质含量有少量增加, 但氮素的利用率已明显降低。

硝酸还原酶 (NR) 是植物氮代谢中的关键酶之一, 因其 $K_m$ 值较高, 它所控制的反应在氮素同化的无机阶段是一个限速步骤, 直接影响到蛋白质的合成。另一方面, NR本身就是蛋白质, 它半衰期短, 周转快, 其活性主要靠酶蛋白的不断合成来维持<sup>[3]</sup>。试验也证明, 叶片NR活性与其蛋白质含量成极显著正相关 (图4)。故NR活性强弱也可反映蛋白质的合

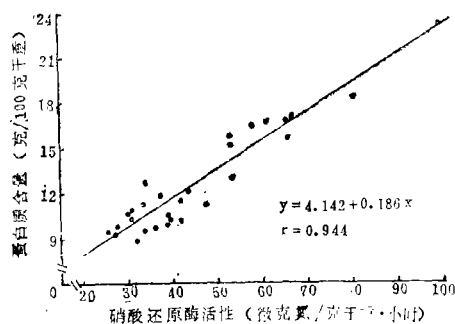


图4 叶片NR活性与蛋白质含量关系

○—○对照; —·—·缺水

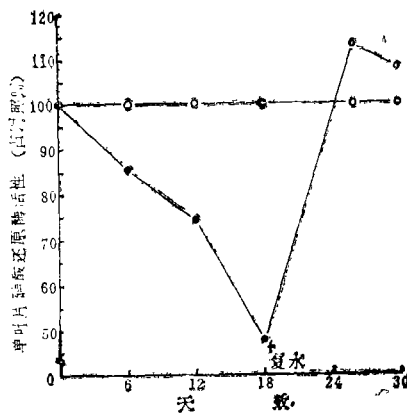


图5 缺水对小麦叶片NR活性的影响

○—○对照; —·—·缺水

成情况。因此,在水分胁迫时NR活性显著降低(图6),说明了水分胁迫对蛋白质合成乃至NR活性有较大的影响。而在复水后,因蛋白质合成过程得到恢复,NR活性便随之增强,并超过对照。并且,NR所提供的还原态又可促进蛋白质的合成。故在复水后蛋白质代谢能够迅速恢复。

### 2.3 水分胁迫对小麦叶片氨基酸代谢的影响

小麦叶片游离氨基酸含量随水分胁迫加剧而呈先增后减的变化(图6)。

在初始水分胁迫时,叶片游离氨基酸含量超过对照14.6%,从此时的总氮含量增加来看,可能这些氨基酸主要是由下部叶片转运而来。当土壤相对含水量降至40%时,因叶片蛋白质已大量水解(参见图3)故使游离氨基酸积累量进一步增加,超过对照45%以上。此后,虽然土壤含水量仍在降低,而游离氨基酸含量却大幅度下降。但从此时对照和缺水处理的叶片肽酶活性(分别为1.114和1.767毫克氮·克蛋白<sup>-1</sup>·小时<sup>-1</sup>,  $t=3.37^*$ ,  $t_{0.05}=2.45$ )和蛋白酶活性及可溶性氮(SN)与总氮(TN)比值均高于对照来看,水分胁迫期间一直是水解反应占优势。因此,严重水分胁迫时游离氨基酸含量降低可能有三个原因:一

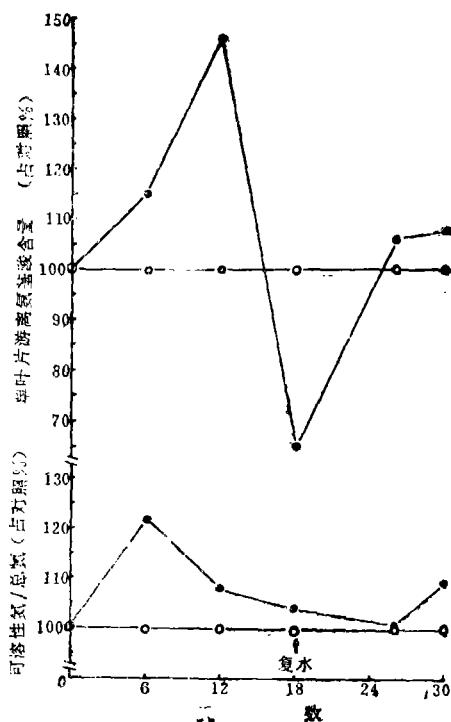


图6 缺水对游离氨基酸量和SN/TN的影响

○—○对照; ·—·缺水

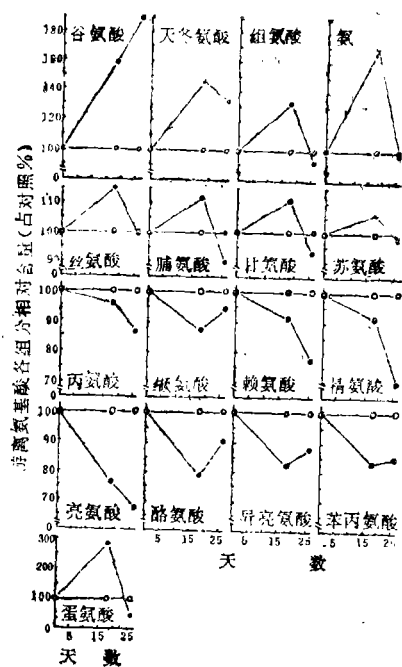


图7 缺水对叶片游离氨基酸组分的影响

○—○对照; ·—·缺水(复水时间同前)

是氨基酸的转移,即水分胁迫引起了植株氮素重新分配,一部分氨基酸被转移到其它部位,这也是总氮含量降低的原因(从总氮含量变化来看,这种转移在土壤相对含水量降至40%时就已经发生);二是氨基酸的转化,即严重的水分胁迫使植物体内常积累大量的酰胺<sup>[4]</sup>,在图6游离氨基酸含量中没有包括这部分酰胺态氮;三是氨基酸的破坏,严重的水分胁迫使一部分氨基酸分解,叶片内氮的积累(见图7)可能与此有关。

复水后,游离氨基酸含量迅速增加,并超过对照,这可能是因为NR活性的恢复,提供了大量的还原态氮,促进了氨基酸的新合成,同时一部分酰胺态氮又转化为氨基酸氮。另外,从总氮含量迅速增加来看,有些氨基酸可能是由其它部位转运而来。

水分胁迫除影响到小麦叶片游离氨基酸总量外,也使各种氨基酸组分的相对含量(占游离氨基酸总量%)发生了较大变化(图7)。根据其增减幅度可大致分为三类:

A. 谷氨酸、天冬氨酸、蛋氨酸、组氨酸、丝氨酸、脯氨酸、甘氨酸增加量(均在10%以上)较大。氨也增加了70.7%;

B. 亮氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸减少量(均大于10%)较多;

C. 苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸、精氨酸变化不大。另外,两个处理的胱氨酸含量均甚微。

由图7还可看出,水分胁迫使三个小族氨基酸中各组分变化方向一致,即丝氨酸族中的丝氨酸、甘氨酸向增加的方向变化,丙氨酸族中的丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和芳香族中的苯丙氨酸、酪氨酸均向减少的方向变化。而使两个大族即天冬氨酸族(包括天冬氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、异亮氨酸)和谷氨酸族(包括谷氨酸、脯氨酸、精氨酸)中各组分有增有减。

复水后,各种游离氨基酸的恢复速率也不尽相同。总的看来,在水分胁迫时其相对量增加的氨基酸(谷氨酸和天冬氨酸除外)和氨都能很快恢复至对照水平;而那些相对量减少的氨基酸则恢复较慢,在复水7天时仍未恢复到对照水平。至于谷氨酸和天冬氨酸不能很快恢复至正常含量(甚至继续增加),可能是因复水首先促进了二者的新合成(它们是氨与所有氨基酸联系的桥梁),缺水时积累的谷酰胺和天冬酰胺这时分别转化为谷氨酸和天冬氨酸之故。而富含碱性氨基酸的核蛋白和核糖体蛋白的大量合成则可能是复水后赖氨酸和精氨酸继续减少的原因。对同族的丙氨酸和亮氨酸在复水后也继续减少的机理尚不清楚。

#### 2.4 水分胁迫对小麦叶片核酸代谢的影响

图8表明,在正常水分供应条件下,小麦叶片具有较高的RNA含量和RNA/DNA比值。但在水分胁迫(土壤相对含水量为30%)条件下,RNA含量和RNA/DNA比值都显著降低。此时对照和缺水处理的核糖核酸酶活性分别为0.479, 1.143g核苷酸·克蛋白<sup>-1</sup>·小时<sup>-1</sup>( $t = 22.06^{**}$ ,  $t_{0.01} = 3.71$ )。可见水分胁迫是通过增强核糖核酸酶活性,加剧RNA的分解破坏作用,从而使RNA含量减少,使RNA/DNA比值相应降低。然而DNA则不受土壤含水量高于萎蔫点的水分胁迫影响,其含量仍然保持在对照水平(图8)。这说明DNA和RNA对水分胁迫有不同的反应。这可能与二者所处位置和功能有关。DNA主要存在于细胞核中,较难受环境条件的影响。且因DNA的作用是贮存信息,在组织和代谢能够恢复的水分胁迫范围内(土壤含水量在萎蔫点以上),DNA如能将其信息保存下来,待水分条件改善时植物就能够正常恢复。然而,RNA主要存在于细胞核外,故较之DNA易受环境条件的影响。且因RNA的作用只是传递信息,只要DNA和有关的转录系统保存下来,复

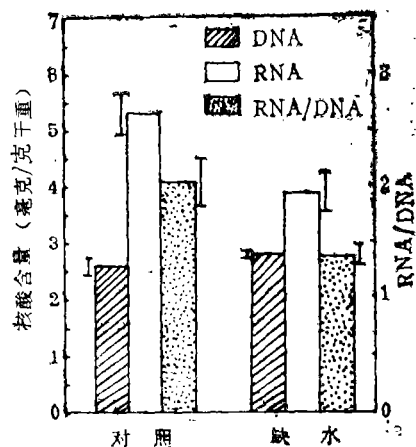


图8 缺水对小麦叶片核酸含量的影响

水后RNA便可重新合成。

### 3 讨 论

以上结果表明,水分胁迫可引起植物体内一系列氮化物的代谢紊乱,这集中表现在对蛋白质代谢的影响。

水分胁迫时,小麦叶片蛋白酶和肽酶活性增强,蛋白质含量下降,并伴有游离氨基酸的积累和转移,说明缺水加剧了蛋白质的降解作用。这与许多学者对其它植物的研究结果是一致的。看来蛋白质趋向于水解是各种植物遭受水分胁迫的普遍特征。

Barnett et al.<sup>[5,6]</sup>用同位素标记法证明,虽然水分胁迫期间植物仍然能合成氨基酸,但氨基酸向蛋白质中的掺入速率因缺水而减慢。Morilla et al.<sup>[3,7]</sup>发现缺水时多聚核糖体很快解聚为单体。在本试验中也观察到水分胁迫使RNA含量显著降低,大量的游离氨基酸不能促进蛋白质快速增加,蛋白氮与总氮的比值和靠酶蛋白不断合成来维持的NR活性因缺水而下降。由此可见,水分胁迫不仅引起蛋白质加速水解,而且也使其合成速度减慢。故可认为水分胁迫时蛋白质含量显著下降是其水解加剧和合成受阻两方面的原因。

从缺水小麦叶片氨基酸组分增减变化来看,并非各种蛋白质相同程度地被水解。如赖氨酸和精氨酸在水分胁迫时变化不大,可能富含赖氨酸和精氨酸的核蛋白和核糖体蛋白没有或很少被水解。Barnett<sup>[5]</sup>, Shah<sup>[8]</sup>也证明,缺水时可溶性蛋白质水解较多,而不溶性的蛋白质水解较少。据此可认为各种蛋白质对于水分胁迫有不同的反应。

对蛋白酶、肽酶和核糖核酸酶活性的研究结果表明,水分胁迫增强了这三种水解酶的活性。这些酶活性的增强可能包含着酶量的增多。例如Martin et al.<sup>[10]</sup>在衰老叶片组织的研究中发现蛋白酶活性增强是因为酶合成增多。Tvorus<sup>[10]</sup>也报道了水分胁迫使核糖核酸酶活性增强是因为刺激其合成的结果。可见,水分胁迫虽然使大多数蛋白质合成受阻,但却促进某些蛋白质(如水解酶类)的合成。至于水分胁迫时植物如何调节蛋白质的选择合成来增强某些水解酶类的活性尚需进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Hanson A D; Hitz W D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Ann Rev Plant Physiol* 1982; 33: 163-203
- 2 Bray C M. Nitrogen metabolism in plants. New York: Longman Inc. 1983: 199-201
- 3 Morilla C A, Boyer J S, Hageman R H. Nitrate reductase activity and polyribosomal content of corn (*Zea mays* L.) having low leaf water potentials. *Plant Physiol* 1973; 51: 817-824
- 4 Elmore C D, Memichael B L. Proline accumulation by water and nitrogen stressed cotton. *Crop Sci* 1981; 21: 244-248
- 5 Barnett N M, Naylor A W. Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiol* 1966; 41: 1222-1230
- 6 Nir I, Poljakoff-Mayber A, Klein S. The effect of water stress on the polysome population and the ability to incorporate amino acids in maize root tips. *Israel J Bot* 1970; 19: 451-462
- 7 Rhodes P R, Matsuda K. Water stress, rapid polyribosome reductions and growth. *Plant Physiol* 1976; 58: 631-635

- 8 Shah C B, Loomis R S. Ribonucleic acid and protein metabolism in sugar beet during drought. *Phyiol Plant* 1965; 18: 240-254
- 9 Martin C, Thimann K V. The role of protein synthesis in the senescence of leaves. I. The formation of protease. *Plant Physiol* 1972; 49: 64-71
- 10 Tvorus E K. Effect of drought and temperature increase on ribonuclease activity in plants. *Sov Plant Physiol* 1970; 17: 658-664

## RELATIONSHIP BETWEEN WATER STRESS AND PLANT NITROGEN METABOLISM

### I. EFFECTS OF WATER STRESS ON NITROGEN METABOLISM IN WHEAT LEAVES

Zhang Dianzhong      Wang Peihong

(*Plant Physiology and Biochemistry Research Lab*)

#### Abstract

Pot experiments were conducted with winter wheat cv. Wei mai 4 to study the effects of water stress on the nitrogen metabolism. Results showed that water stress reduced the activity of nitrate reductase significantly, but increased that of proteinase, peptidase and RNase. As a result, the degradation of protein and RNA was enhanced, and their contents reduced. At the same time, the contents of total nitrogen and free amino acids and the composition of amino acids were changed. DNA content was unaffected when soil water content was above wilting point.

**Key words,** Water stress, nitrogen metabolism, wheat