

干旱胁迫及不同钾水平下烟草叶肉细胞中钾的再分布

魏永胜¹, 梁宗锁², 张福锁³

(1 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨陵 712100; 2 中国科学院、水利部水土保持研究所, 黄土高原土壤侵蚀和干旱农业国家重点实验室, 陕西杨陵 712100; 3 中国农业大学植物营养系, 北京 100094)

摘要: 研究了干旱胁迫及不同水平下 K^+ 在烟草叶肉细胞的液泡、线粒体、叶绿体中的分布。结果表明, 无论是正常水分条件下还是干旱胁迫下, 施 K 肥可以提高叶肉组织中 K 的含量; 烟草叶肉细胞中 K^+ 主要集中在液泡中, 叶绿体中次之, 线粒体中最少。干旱胁迫下, K^+ 在烟草叶肉细胞内存在明显再分配现象, 不施钾植株在干旱胁迫下液泡中 K^+ 总量变化不大, 但所占比例减少; 而线粒体、叶绿体中 K^+ 总量和所占比例均明显增加。施钾植株干旱胁迫下液泡中 K^+ 所占比例也有减少, 但总量增加; 线粒体中 K^+ 总量和所占比例均减少, 叶绿体中 K^+ 总量和所占比例均明显增加, 且叶绿体中 K^+ 的变化趋势随施钾量增加而增强。结果还表明, 在不同干旱程度下, 适量施钾可以减少烟草叶肉细胞光合活性的下降。

关键词: 干旱胁迫; 烟草; 叶肉细胞; 钾; 再分布

中图分类号: S572; Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1002-505X(2002)04-0447-05

Redistribution of potassium in tobacco mesophyll cell under soil drought stress and different levels of potassium supplied

WEI Yongsheng¹, LIANG Zongluo², ZHANG Fushuo³

(1 College of Life Sci., Northwest Sci. and Techn. Univ. of Agric. and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 State Key Lab. of Soil Erosion and Dryland Farming on Loess Plateau, Inst. of Soil and Water Conserv. CAS, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3 Dept. of Plant Nutr., China Agric. Univ., Beijing 100094, China)

Abstract: Pot experiment of potassium redistribution at different parts of tobacco mesophyll cells was carried out in greenhouse. The result showed that the potassium content of mesophyll increased with potassium supplied under normal or drought conditions. Most of the potassium was in the vacuole, little in the chloroplast and least in the mitochondrion. There were obvious redistribution of potassium among vacuole, mitochondrion, chloroplast under drought. The potassium content in vacuole of tobacco changed little without potassium supply, but its ratio reduced. Both of potassium content and ratio of chloroplast and mitochondrion were increased obviously. The potassium content in vacuole of tobacco increased, but the ratio reduced with potassium supplied under drought. Mitochondrion potassium content and ratio were also reduced, and potassium content and proportion were increased in chloroplast with supplied potassium. The result also showed that reduction of photosynthesis activity of mesophyll cells could be prevented by supplied potassium.

Key words: drought stress; tobacco (*Nicotiana tabacum*); mesophyll cell; potassium; redistribution

收稿日期: 2001210210

基金项目: 国家青年基金 (59909007); 国家重点基础研究规划项目 (G19990117008) 资助。

作者简介: 魏永胜 (1970) 男, 天津人, 讲师, 主要从事土壤及植物抗旱生理方面的教学和研究工作。

K^+ 在植物体内有很强的移动性, 当植物受旱时, K^+ 在不同器官间、细胞及细胞器之间不同区域内分布变化受供水状况的影响明显, 而 K^+ 的分布反过来也直接影响这些部位的水分分布和植物整体的水分关系; 调节水分在该区域的数量和移动方向, 进而影响各器官的生长与干物质积累, 最终影响收获产品的品质和产量。同时, K^+ 通过促进叶绿素的合成和类囊体膜的稳定^[1], 促进光合磷酸化作用, 加强 CO_2 的同化^[2], 促进作物的正常呼吸作用、氧化磷酸化作用以及 ATP 的形成^[3]。许多研究表明^[4-8], 合理施用钾肥可改善作物体内的钾素营养状况, 提高作物抗旱能力和水分利用效率(WUE), 增强抗逆性, 增加作物产量和改善作物品质。但目前人们普遍认为, K^+ 主要通过渗透调节作用增强作物的抗旱性, 而对于干旱条件下 K^+ 如何在细胞不同区域内进行重新分配, 如何影响细胞功能的原因研究不多。

为此, 本试验在人工控制土壤水分和施钾水平条件下研究干旱条件和不同钾水平下 K^+ 在烟草叶肉细胞内叶绿体、线粒体、液泡等不同细胞器和部位中的分布, 探讨这种分布变化对细胞水分关系和功能的影响, 以期为北方干旱条件下如何提高烟叶含钾量提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2000 年 6 月至 2000 年 12 月在西北农林科技大学资源环境学院日光温室内进行(室内温度在 22e 以上)。将 25e 下催芽的烟草种子直播于 22cm@20cm 的生长钵中(干土 6kg), 供试土壤为 土, 其有机质含量 117%, NH_4^+2N 61.3 mg/kg, NO_3^-2N 1011.0 mg/kg, 速效 P 231.0 mg/kg, 速效 K 1281.7 mg/kg, Cu、Fe、Mn、B 含量分别为 11.46、118、851.0、01.5 mg/kg, pH 8.11。供试烟草(Nicotiana tabacum)品种为 NC89(陕西省农科院提供), 供试肥料为硫酸钾、尿素、三料磷肥(含 P_2O_5 42%)。

试验设 3 个施钾水平: 不施钾(F1)、中等钾水平(F2)每盆施 K 21.4g、高钾水平(F3)每盆施 K 41.8g。N、P 肥用量 3 个处理均为每盆 01.2g。按盆称取肥料, 粉碎后与土壤混匀装盆。在钾处理的基础上设正常供水和干旱 2 个处理: 干旱处理(W1)含水量为田间持水量的 40%~45%, 正常供水(W2)含水量为田间持水量的 70%~75% 作对照。在烟苗生长至 8 叶 1 心时各处理选择生长均匀一致的植株进行水分处理, 并采取逐日称重法进行水分控制, 使土壤含量始终保持在处理范围内。每个处理 18 盆, 每盆种烟 1 株。

试验于 11 月 2 日加设持续干旱处理, 即在正常供水处

理的植株最后一次浇水后, 对 3 个施肥处理停止供水, 使土壤含水量自然落干, 经 38d 后使土壤含水量下降到田间持水量的 30%。在此期间定期测定土壤含水量并测定相关生理指标。每个处理 3 盆, 每盆种烟 1 株。

1.2 测定项目及方法

细胞器分离: 采用离心分离法^[9], 获得烟草叶肉细胞的活体叶绿体线粒体, 并分别采用 2,6-二氯酚靛酚还原法和詹纳斯绿染料活染法对分离提取的叶绿体及线粒体进行定性活体鉴定, 证明所获得的细胞器为活体。将活体叶绿体及线粒体以去离子水胀破, 沸水浴 15 min 提取 K^+ , 用日立 18-80 型原子吸收分光光度计测定 K^+ 含量, 以提取的细胞器总 K 占样品干重的百分比表示, 并计算叶肉细胞中液泡、线粒体、叶绿体中的钾分别占三者总 K 量的相对比例(%)。

光合速率和胞间 CO_2 浓度: 选择叶位相近、大小相似的叶片用 LICOR26400 光合仪测定。

2 结果与分析

2.1 控制水分条件下烟草叶片光合速率变化

表 1 看出, 正常水分条件下, 烟草叶片的光合速率随施钾增加而增加, 且上午的光合速率明显高于下午。干旱胁迫下, 施钾植株光合速率高于不施钾植株, 不施钾植株的光合速率下午明显低于上午, 而施钾植株光合速率上下午之间无差异。干旱胁迫处理与正常供水处理相比, 在上午干旱胁迫处理的植株光合速率明显低于正常供水处理, 且 F2 处理光合速率下降最少, 光合速率明显高于 F1 和 F3 处理; 下午, 干旱胁迫下 F1 和 F3 处理的光合速率均明显降低, 而 F2 处理植株下午的光合速率无变化, 且明显高于 F1 和 F3 处理。

2.2 控制水分条件下烟草叶片胞间 CO_2 浓度变化

表 1 还看出, 正常供水条件下, 无论是上午还是下午, 不同施钾处理间烟草叶片的胞间 CO_2 浓度无明显变化。干旱胁迫下, 在光合速率较高的上午, 烟草叶片的胞间 CO_2 浓度随施钾增加而增加, 差异明显。与正常供水处理相比, F1 处理胞间 CO_2 浓度明显升高, 而此时光合速率却明显降低, F3 处理植株在胞间 CO_2 浓度明显降低的同时, 光合速率也明显降低, F2 处理胞间 CO_2 浓度无明显变化, 光合速率降低。在光合速率较低的下午, F3 处理植株叶片胞间 CO_2 浓度明显低于 F1 和 F2 处理, F1 与 F2 处理间则差异不明显。说明不施钾烟草植株光合速率下降的主要原因是非气孔限制, 即叶肉细胞光合活性下降引起的^[10]; 施钾植株光合速率下降则主要是气孔限制。说明施钾可以减少叶肉细胞光合活性的下降。

表 1 烟草叶片光合速率与胞间 CO₂ 浓度变化Table 1 The change of photosynthetic rate and intercellular CO₂ concentration of tobacco with different treatments

项目 Item	时间 Time	处理 Treat.	F1	F2	F3
光合速率	10: 00	W1	3.56 d	6.32 c	4.26 d
Photosynthetic rate (Lmo#m ⁻² #s ⁻¹)	15: 00	W2	7.42 c	9.59 b	12.56 a
		W1	1.29 e	6.96 c	4.31 d
胞间 CO ₂ 浓度 Intercellular CO ₂ concentration (Lmo#mol(air) ⁻¹)	10: 00	W2	4.32 d	6.94 c	7.99 c
		W1	398.67 a	250.00 b	171.67 c
	15: 00	W2	306.33 b	281.00 b	254.00 b
		W1	266.00 b	278.33 b	188.00 c
		W2	263.67 b	294.67 b	240.33 b

注: 表中数据为 3 次重复平均值; 不同字母表示同一测定时间不同处理差异达 5% 显著水平。

Note: Data in the table is average of 3 replications; different letter means significant at 5% level in same treatment and determining time.

2.3 不同处理地上部分干物质积累量

表 2 表明, 不同施钾处理下干旱胁迫烟草地上部分干物质积累量均减少。正常供水条件下干物质积累量随着施钾量的增加而增加, 施钾可降低茎/叶

比值和叶脉/叶肉比值; 而干旱胁迫下 F2 处理烟草地上部分干物质积累量最高, 施钾处理烟草的茎/叶比值和叶脉/叶肉比值增加。

表 2 不同处理地上部分干物质积累量

Table 2 Dry matter accumulation of tobacco with different treatments

处理 Treat.	干重 Dry weight (g)				各部位所占比例(%) % of each part					茎/叶 S/L	脉/肉 V/M
	S	M	V	T	S	M	V	L	T		
F1W1	5.5	19.7	5.1	30.3	18.2	65.0	16.8	81.8	100.0	0.22	0.26
F1W2	8.3	29.3	7.8	45.4	18.3	64.5	17.2	81.7	100.0	0.22	0.27
F2W1	10.6	34.3	9.7	54.6	19.4	62.8	17.8	80.6	100.0	0.24	0.28
F2W2	7.3	43.0	11.0	61.3	11.9	70.1	17.9	88.1	100.0	0.14	0.26
F3W1	6.6	20.8	5.7	33.1	19.9	62.8	17.2	80.1	100.0	0.25	0.27
F3W2	13.1	46.1	12.1	71.3	18.4	64.7	17.0	81.6	100.0		

注(Note): S- 茎 stem, M- 叶肉 mesophyll, V- 叶脉 vein, L- 叶 leaf, T- 总量 Total.

表中数据为 3 次重复平均值, 叶片为叶位相同的功能叶。Data in the table is average of 3 replications, Leaf is function leaf in the same part.

2.4 控制水分条件下烟草叶肉及叶脉组织含钾量

干旱胁迫下烟草叶肉组织中的含钾量明显高于正常供水处理的叶片; 在同样的水分条件下, 随着施钾量的增加, 叶肉组织中含钾量也明显增加, 说明增施钾肥可以提高叶肉组织中钾的含量, 尤其是在正常供水条件下。叶脉中含钾量与叶肉组织中含钾量结果有相同趋势(表 3)。

2.5 控制水分条件下烟草叶肉细胞内钾的分布

表 4 的结果表明, 无论是正常水分条件下还是干旱胁迫下, 烟草叶肉细胞中 K⁺ 主要集中在液泡中, 叶绿体和线粒体中占有少量 K⁺, 而线粒体最少。在干旱胁迫下 K⁺ 在液泡中的分布量随施钾量的增加而增加, 线粒体中的分布量以 F2 处理最高, 叶绿体中 K⁺ 的分布量则以 F3 处理最高。在正常供水

表 3 干旱胁迫条件下不同处理烟草植株各部位含钾量

Table 3 Potassium content in different parts of tobacco with different treatments under drought

部位 Part	处理 Treatment	F1	F2	F3
叶肉 Mesophyll	W1	12.9 c	20.2 ab	23.6 a
	W2	6.9 cd	12.9 c	19.9 ab
叶脉 Vein	W1	64.4 c	72.5 b	86.2 a
	W2	43.2 d	70.6 bc	68.5 bc

注: 表中数据为 3 次重复平均值, 不同字母表示同一部位不同处理间差异达 5% 显著水平。

Note: Data in the table is average of 3 replications, different letter means significant at 5% level in same part.

条件下, F2 处理的液泡中分布量最高, F3 处理的线粒体和叶绿体中 K⁺ 分布量最高。叶肉细胞中的

表 4 不同处理烟草叶肉细胞内 K^+ 的分布

Table 4 Potassium distribution in mesophyll cell with different treatments

叶肉细胞 Mesophyll	处理 Treat.	占样品干重百分比(%) % of the dry wt. of sample			相对比例(%) Relative ratio		
		F1	F2	F3	F1	F2	F3
液泡 Vacuole	W1	1.95	2.05	2.29	94.54	95.58	93.73
	W2	1.97	2.23	2.07	95.76	95.90	94.09
线粒体 Mitochondrion	W1	0.05	0.04	0.05	2.38	1.85	2.20
	W2	0.04	0.04	0.07	2.11	1.67	3.06
叶绿体 Chloroplast	W1	0.06	0.05	0.13	3.08	2.57	4.08
	W2	0.04	0.06	0.06	2.13	2.42	2.84

K^+ 在 3 个部位中分布的比例变化不同于含量的变化, 干旱胁迫下液泡中 K^+ 所占比例比正常供水条件下减少, 而线粒体与叶绿体中 K^+ 所占比例除 F3 处理的线粒体外, 均比正常供水时有所增加。

2.6 持续干旱处理下叶肉细胞中 K^+ 含量变化

持续干旱处理下, 不同钾处理的液泡含 K^+ 量所占比例有相同的变化趋势, 即随着土壤含水量的

降低迅速上升, 当土壤含水量降为 17% 左右时达到最大, 以后基本稳定, 并呈弱的下降趋势, 其中以 F1、F3 处理变化较大(图 1a)。线粒体、叶绿体含 K^+ 量所占比例有相同的变化趋势与液泡的相反, 随着土壤含水量的降低先迅速下降, 当土壤含水量降为 17% 左右时达到最小, 而在后期稍有升高(图 1b、c)。

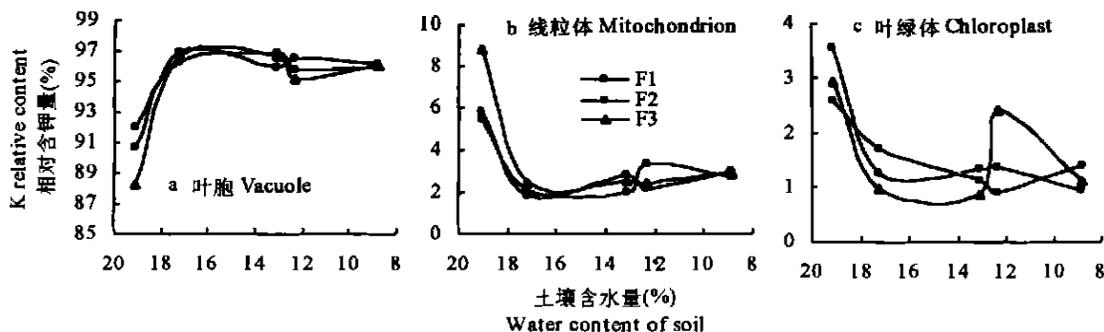


图 1 烟草叶肉细胞中液泡、线粒体和叶绿体相对含钾量变化

Fig. 1 The relative content of potassium in vacuole, mitochondrion and chloroplast of tobacco with different treatments

3 讨论

植物生长受抑制、光合速率下降是干旱胁迫所产生的最明显的生理效应, 而 K^+ 不仅对维持细胞膨压, 促进植物生长有利, 同时对植物在干旱胁迫下维持光合作用也有重要作用。这可能与 K^+ 在植物体内流动性最大及其在植物光合中的作用有关。由于 K^+ 流动性强, 可在不同组织间进行再分配, 这种再分配会受到不同组织间水分再分配的影响, 同时也会改变水分的分配, 而影响生长和发育, 在烟草生长发育中 K^+ 在叶肉细胞内不同部位间的分配和含量高低也直接影响叶肉细胞代谢。

叶肉细胞内 K^+ 的分布结果表明, 烟草叶肉细

胞中 K^+ 主要集中在液泡中, 叶绿体次之, 线粒体占有量最少。液泡所含 K^+ 的总量是细胞内最大的, 远远高于叶绿体和线粒体占有量, 叶绿体 K^+ 所占比例要高于线粒体。因此液泡所分配的 K^+ 的比例的微弱变化, 都会引起线粒体及叶绿体中 K^+ 所占比例明显变化。

长期在干旱胁迫下, 烟草叶肉细胞中液泡所分配 K^+ 的量要低于长期在正常水分下生长的植株, 而叶绿体分配 K^+ 含量明显增加, 线粒体增加相对较少。从相对比例看, 线粒体含 K^+ 量在 F1、F2 处理的干旱胁迫时高于正常供水处理, 而 F3 处理则明显低于正常供水处理; 无论是干旱处理还是正常供水, F2 处理所占比例均低于 F1 和 F3 处理。由

于 K^+ 可激活呼吸代谢中的丙酮酸激酶、磷酸果糖激酶、琥珀酸激酶、苹果酸脱氢酶等关键酶, 调节呼吸代谢速度^[3], 因此适量施钾处理植株可能会减少呼吸消耗量; 同时 K^+ 进入叶绿体间质, 维持间质的碱性, 有助于维持叶绿体膜两边的电势差, 保证光合正常进行, 并促进电子在类囊体膜上的传递及光合磷酸化作用; 还能使氧化态辅酶 NADP^+ 转变为还原态辅酶 NADPH , 促进 CO_2 的同化^[2]。相对较多的 K^+ 进入叶绿体将有助于维持干旱胁迫下光合作用的正常水平, 这可能是干旱胁迫下适量施钾 (F2), 烟草获得相对较高产量的原因。干旱时叶绿体、线粒体分配 K^+ 含量增加有助于水分向它们所在区域调配, 从而保证干旱胁迫下光合及呼吸的正常进行, 维持整株烟草的正常生理活动。同时, 控制水分条件下烟草叶片光合速率和胞间 CO_2 浓度的变化证明, 不施 K^+ 的烟草植株光合速率下降的主要原因是非气孔限制, 即叶肉细胞光合活性下降引起的^[9]; 施钾植株光合速率下降的主要原因是气孔限制。说明干旱胁迫下, 施钾可以减少叶肉细胞光合活性的下降; 但钾对干旱下植物光合作用的影响还有许多问题有待进一步研究。

在持续干旱下, 土壤水逐渐减少, 叶肉细胞中 K^+ 的分布不同于控制土壤水分处理结果。液泡所占有的 K^+ 量趋向增加, 而线粒体和叶绿体所占有的 K^+ 量趋于减少, 但当土壤水降至 17% 左右时, 变化均趋于平缓, 且液泡所占有的 K^+ 量有减少趋势, 而线粒体和叶绿体所占有的 K^+ 量有增加趋势。液泡所占有的 K^+ 量初期升高, 可能会降低水势而增强细胞吸水能力, 后期则可引导水分由液泡向外流。但干旱初期的这种结果可能是 K^+ 在细胞内的重新分配的结果, 而不是根系吸收 K^+ 增加的结果, 因为此时叶肉含 K^+ 量是在降低。无论是初期水分的内

向移动还是后期的外向移动, 都会影响细胞质中的水分含量。由于原生质中自由水含量原本较低, 因此这种水分的运动对原生质含水量的影响较大, 但影响的方向如何, 则有待深入研究。

参考文献:

- [1] Terry N. Limiting factors in photosynthesis: IV. Iron stress mediated changes in light harvesting and electron transport capacity and its effects on photosynthesis in vivo [J]. *Plant Physiol.*, 1983, 71: 852-860.
- [2] Peoples T R, Mengel K, Koch W. Role of potassium in carbon dioxide assimilation in *Medicago sativa* L [J]. *Plant Physiol.*, 1979, 63: 878-881.
- [3] Heber U, Heldt H W. The chloroplast envelope: Structure, function and role in leaf metabolism [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1981, 32: 139-168.
- [4] 邹国元, 杨志福, 李晓林. 低温下钾在植物水分调节中的作用 [J]. *中国农业大学学报*, 1999, 4(1): 21-25.
- [5] 梁德印, 徐美德, 王晓琪, 等. 钾营养对棉花养分吸收和干物质累积的影响 [J]. *中国农业科学*, 1992, 25(2): 62-74.
- [6] 李贵宝, 焦有, 孙克刚, 等. 砂姜黑土的固钾特性和小麦施用钾肥的效应 [J]. *干旱地区农业研究*, 1998, 16(2): 62-68.
- [7] 李贵宝, 张桂兰, 孙克光, 等. 豫西旱地冬小麦施用 K^+ 肥及其与氮肥配施的研究 [J]. *干旱地区农业研究*, 1995, 13(2): 64-67.
- [8] 黄满凤, 周家秋, 杨志福, 等. 干旱胁迫下钾对玉米水分利用效率的影响 [A]. 中国土壤学会第五届土壤科学工作者学术讨论会论文编委会. *现代土壤科学研究* [C]. 北京: 中国农业科技出版社, 1994. 481-483.
- [9] 汤章城. *现代植物生理学实验指南* [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [10] 许大全. 光合作用气孔限制分析中的一些问题 [J]. *植物生理学通讯*, 1997, 33(4): 241-244.
- [11] 魏永胜, 梁宗锁. 钾与提高作物抗旱性的关系 [J]. *植物生理学通讯*, 2001, 37(12): 576-580.
- [12] 魏永胜, 梁宗锁. 干旱条件下不同施钾水平对烟草水分关系的影响 [J]. *西北农业学报*, 2001, 10(4): 90-94.