

# 铝胁迫下钙对小麦根系细胞质膜 ATP 酶活性和膜脂组成的效应

何龙飞<sup>1</sup>, 沈振国<sup>2</sup>, 刘友良<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 广西大学农学院, 南宁 530005; <sup>2</sup> 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095)

**摘要:** 比较了在铝胁迫条件下钙对耐铝性不同的 2 个小麦品种 Altas66、Scout66 根细胞质膜 ATP 酶活性、膜脂和脂肪酸组成的影响。结果表明, 铝胁迫下增加营养液中的钙浓度, 可提高质膜 H<sup>+</sup>-ATP 酶活性和磷脂含量, 降低 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性和糖脂含量; Altas66 的亚麻酸含量下降, 其它组分略有上升, 不饱和指数和双键指数下降; Scout66 的亚麻酸含量明显上升, 棕榈酸则下降明显, 其它组分也略有降低, 不饱和指数和双键指数明显上升。

**关键词:** 小麦; 根系; 质膜; 铝胁迫; 钙; ATP 酶

## Effects of Calcium on ATPase Activity and Lipid Composition of Plasma Membranes of Wheat Roots Under Aluminum Stress

HE Long-fei<sup>1</sup>, SHEN Zhen-guo<sup>2</sup>, LIU You-liang<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530005;

<sup>2</sup> College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

**Abstract:** Effects of calcium on ATPase activities, the contents of lipid, and fatty acid composition of plasma membrane of wheat roots under aluminum stress were studied. The results showed that the increase of calcium concentration in nutrient solution resulted in the increase of the activity of H<sup>+</sup>-ATPase and the lipid content, decrease of the activity of Ca<sup>2+</sup>-ATPase and the galactose in lipid of plasma membrane. Owing to the decrease of linolenic acid content, the IUFA and DBI decreased in Altas66. The IUFA and DBI of plasma membrane of Scout66 roots increased because its linolenic acid content increased obviously and its palmitic acid content decreased apparently.

**Key words:** Wheat; Root system; Plasma membrane; Aluminum stress; Calcium; ATPase

铝毒害是酸性土壤上作物生长的主要限制因素,也是森林大面积退化的主要原因。施钙能够缓解铝的毒害作用<sup>[1]</sup>,但作用机理还不清楚。铝胁迫影响根细胞质膜的结构和功能<sup>[2~4]</sup>。笔者研究发现,铝影响小麦根细胞质膜的 H<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性,还影响质膜磷脂和糖脂含量以及脂肪酸组成<sup>[5]</sup>。钙缓解铝毒害作用机理是否与其对质膜功能的影响有关,尚未见报道。笔者通过在铝胁迫条件下,提高营养液中钙的浓度,比较前后小麦根系细胞质膜 ATP 酶活性和膜脂组成变化的研究,从一个侧面探讨了钙缓解铝毒害作用的机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 小麦幼苗培养及处理

小麦品种(*Triticum aestivum* L.)为 Altas66(耐铝)和 Scout66(铝敏感)。种子经消毒、催芽后,进行溶液培养。培养液参照 Shen 等<sup>[5]</sup>的方法,每 2~3 d 更换 1 次。幼苗长至一心一叶,分 2 组进行处理: 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> AlCl<sub>3</sub> 和 5 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> AlCl<sub>3</sub>。每天调节酸度,使其稳定在 pH 4.1。每 2~3 d 更换 1 次营养液。

## 1.2 质膜微囊提取

处理 5 d 后,每处理取根尖 1 cm 左右约 10 g,按照文献 [6] 进行质膜微囊的提取。

## 1.3 质膜 ATP 酶活性

按照文献 [6] 的方法进行。进行 3 次独立试验,每次 3 个重复。

## 1.4 极性脂的提取及测定

采用 Brown 等 [7] 方法提取质膜极性脂;磷脂测定综合苏维埃等 [8] 和胡章立等 [9] 的方法,糖脂结合半乳糖测定按 Roughan 和 Butt 的方法 [10]。3 次独立试验,每次 3 个重复。

## 1.5 膜脂肪酸组分测定

据刁丰秋等 [11] 的方法进行测定。2 次独立试验,每次 3 个重复。

# 2 结果与分析

## 2.1 铝胁迫下钙对小麦根细胞质膜 ATP 酶活性的影响

铝胁迫下,与低钙 ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 条件相比,提高营养液中钙浓度(至  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 增加敏感品种 Scout66 根系质膜的  $\text{H}^+$ -ATP 酶活性,二者之间存在极显著差异,而耐铝品种 Altas66 根系质膜的  $\text{H}^+$ -ATP 酶活性变化不大,没有显著差异(图 1)。与  $\text{H}^+$ -ATP 酶不同,提高营养液中的钙浓度使  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性下降,与  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  钙条件下的铝处理相比,营养液中钙为  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,Altas66 和 Scout 66 质膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性分别降低 46% 和 23%,差异显著(图 2)。

## 2.2 铝胁迫下钙对小麦根细胞质膜磷脂和糖脂含量的影响

与低钙下铝处理相比,提高营养液中钙浓度,2 品种质膜磷脂含量均增加,在 Scout66 中达到极显著差异,增加了 21.8%(图 3),减缓了由于铝处理而引起的磷脂含量下降 [6]。

铝胁迫下,提高营养液中的钙浓度,小麦根系质膜糖脂含量下降,在 2 处理钙浓度之间的糖脂含量变化达极显著差异。与低钙时相比,高钙下 Altas66 质膜糖脂含量下降了 36.5%,Scout66 下降了 23.2%(图 4),缓解因铝处理所引起的糖脂含量增加 [6]。

## 2.3 铝胁迫下钙对小麦根细胞质膜膜脂肪酸组分的影响

2 品种小麦根质膜脂肪酸主要有棕榈酸、亚油酸和亚麻酸组成,三者占总脂肪酸的 90% 以上。铝胁迫条件下,提高营养液中钙的浓度,各脂肪酸含量

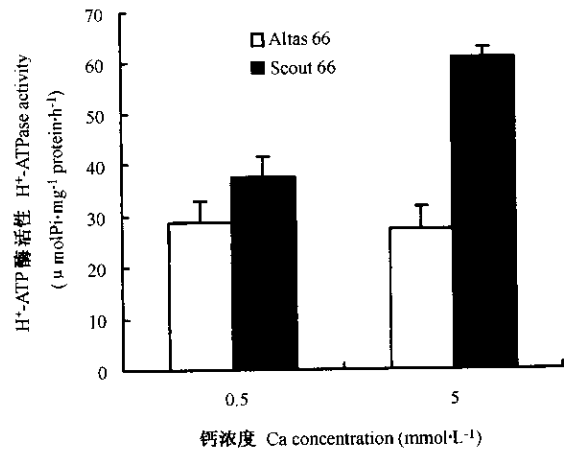


图 1 铝胁迫下钙对小麦根系质膜  $\text{H}^+$ -ATP 酶活性的影响  
Fig.1 Effect of Ca on PM- $\text{H}^+$ -ATPase of wheat roots activity under Al stress

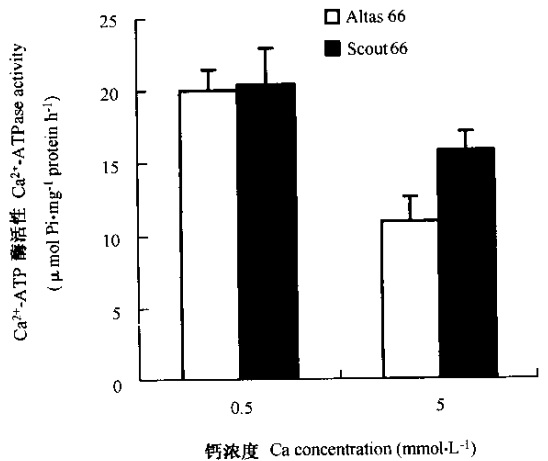


图 2 铝胁迫下钙对小麦根系质膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性的影响  
Fig.2 Effect of Ca on PM- $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of wheat roots under Al stress

发生了变化,从而使不饱和指数和双键指数也产生相应变化(表)。与低钙 ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 条件下相比,高钙 ( $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下 Altas66 的亚麻酸含量下降,其它组分略有上升,不饱和指数和双键指数下降;Scout66 的亚麻酸含量明显上升,棕榈酸则下降明显,其它组分也略有降低,不饱和指数和双键指数明显上升。

# 3 讨论

## 3.1 铝胁迫下钙对质膜 ATP 酶活性的影响

笔者发现较高浓度铝 ( $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 胁迫下,Altas66 质膜  $\text{H}^+$ -ATP 酶活性仍略有上升,而 Scout66

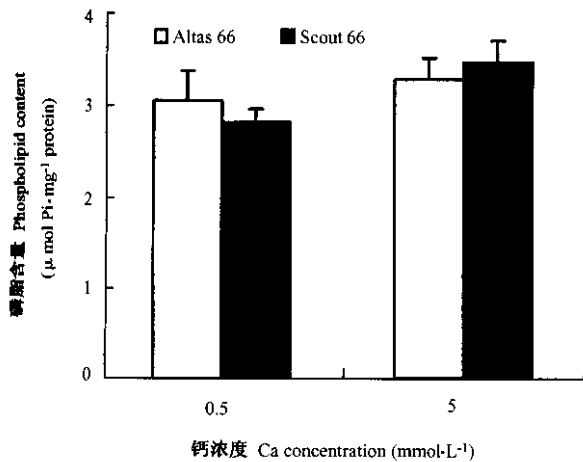


图3 铝胁迫下钙对小麦根系质膜磷脂含量的影响

Fig.3 Effect of Ca on PM phospholipid contents of wheat roots under Al stress

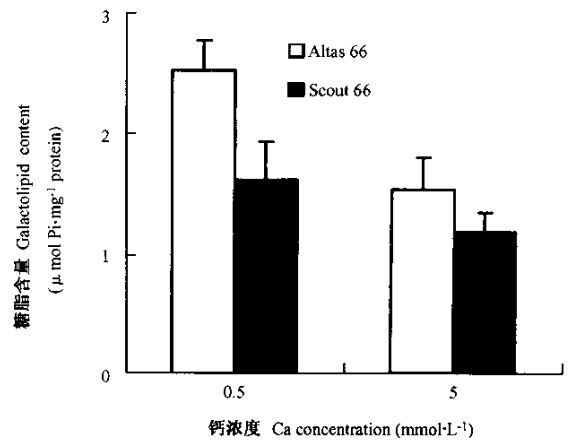


图4 铝胁迫下钙对小麦根系质膜糖脂含量的影响

Fig.4 Effect of Ca on PM galactolipid contents of wheat roots under Al stress

表 铝胁迫下钙对小麦根细胞质膜脂肪酸组分的影响

Table Effect of Ca on the fatty acid composition of plasma membranes in roots from wheat under Al stress

品种 Cultivars	钙浓度 Ca concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )	脂肪酸 <sup>1)</sup> Fatty Acid (%)					不饱和指数 IUFA	双键指数 DBI
		棕榈酸 (16:0) Palmitic acid	硬脂酸 (18:0) Stearic acid	油酸 (18:1) Oleic acid	亚油酸 (18:2) Linoleic acid	亚麻酸 (18:3) Linolenic acid		
Altas66	0.5	29.4	2.3	4.4	40.4	23.2	154.8	4.9
	5.0	30.1	2.4	5.2	41.5	20.8	150.6	4.6
Scout66	0.5	33.7	3.0	3.9	39.4	20.0	142.7	3.9
	5.0	30.9	1.9	3.5	39.1	24.6	155.5	4.7

<sup>1)</sup> 不饱和指数 = 1 × 油酸组分比例 + 2 × 亚油酸组分比例 + 3 × 亚麻酸组分比例; 双键指数 = 不饱和指数 ÷ (棕榈酸组分比例 + 硬脂酸组分比例)

IUFA = 1 × % oleic acid + 2 × % linoleic acid + 3 × % linolenic acid; DBI = IUFA / (% palmitic acid + % stearic acid)

质膜 H<sup>+</sup>-ATP 酶活性迅速下降,表明 Altas66 在维持跨膜质膜电化学势和物质运输能力上明显强于 Scout66,质膜 H<sup>+</sup>-ATP 酶活性降低,会破坏跨质膜电化学势梯度,细胞壁酸化环境的保持能力降低,根伸长生长就会受到抑制<sup>[6]</sup>。同时,由于液泡膜的 H<sup>+</sup>-ATP 酶活性也下降<sup>[12]</sup>,共同导致胞质 H<sup>+</sup> 增加,影响到胞质 pH 的稳定。因而,两品种耐铝性差异可能与此有关。增加钙对耐铝品种 Altas66 质膜 H<sup>+</sup>-ATP 酶活性影响不大,而能较大幅度提高铝胁迫下敏感品种 Scout66 的质膜 H<sup>+</sup>-ATP 酶活性,跨质膜电势梯度随之有所回升,从而能部分恢复细胞正常功能。

Rengel 认为质膜 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性降低可减少胞质 Ca<sup>2+</sup> 跨质膜外运,缓解由于 Al<sup>3+</sup> 阻塞质膜 Ca<sup>2+</sup> 通道造成的胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度降低<sup>[13]</sup>。提高铝胁迫下营养液中钙浓度,两品种 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性降低,可能有利于维持胞质中的 Ca<sup>2+</sup> 稳态,进一步缓解由于

Al<sup>3+</sup> 阻塞 Ca<sup>2+</sup> 通道造成的胞内 Ca<sup>2+</sup> 缺乏<sup>[13]</sup>。

### 3.2 铝胁迫下钙对质膜膜脂组成的影响

何龙飞等曾提出磷脂:糖脂比值变化与植物耐铝性关系密切的论断<sup>[6]</sup>。Scout66 需要较高质膜磷脂:糖脂比来维持细胞正常功能,Altas66 则较低;铝胁迫后,Scout66 质膜磷脂:糖脂比下降迅速,受害严重,Altas66 则下降较缓,受害相对较轻<sup>[6]</sup>。增加铝胁迫下营养液中钙浓度,两品种质膜磷脂含量增加,糖脂含量下降,有利于加强膜脂与膜蛋白之间的联系<sup>[14]</sup>,保卫界面脂,改善脂质环境<sup>[3]</sup>,加强磷脂与 ATP 酶的联系,增加膜稳定性,减少六角形结构(HII)的形成,降低质膜通透性,减少 Al<sup>3+</sup> 跨质膜进入细胞质,缓解铝的毒害作用。从另一侧面证实了笔者的上述论断。

### 3.3 铝胁迫下钙对质膜膜脂肪酸组成的影响

膜脂肪酸的不饱和指数与膜相变及流动性密切相关。铝胁迫下,Altas66 膜脂不饱和指数稳定,并

略有上升,而 Scout66 不饱和指数下降<sup>[6]</sup>。铝胁迫下提高营养液中钙的浓度,Altas66 质膜不饱和指数和双键指数则略有下降,而 Scout66 则明显上升。这与耐铝的 Altas66 在铝胁迫下膜脂组成的稳定性明显高于铝敏感的 Scout66 的结论是一致的<sup>[6]</sup>。高钙下,增强了  $\text{Ca}^{2+}$  与  $\text{Al}^{3+}$  的拮抗作用,减少水合  $\text{Al}^{3+}$  与磷脂含氧阴离子通过脱水作用联系在一起<sup>[15]</sup>,也降低通过羧基与膜蛋白的结合,从而降低液晶态膜刚性<sup>[16]</sup>,加上 Scout66 质膜不饱和指数和双键指数上升,使膜流动性提高,增强质膜的调控能力和适应性,而增强了对铝毒害的抵御能力<sup>[17]</sup>;Altas66 质膜不饱和指数和双键指数略有下降,与受铝胁迫时上升趋势刚好相反,说明其铝毒害作用也应得到了缓解,但变化的原因还有待进一步探讨。

## References

- [ 1 ] Rengel Z. Role of calcium in aluminum toxicity. *New Phytologist*, 1992, 121 : 499 - 513.
- [ 2 ] Facahan A R, Meis L D. Inhibition of maize root  $\text{H}^+$ -ATPase by fluoride and fluoroaluminate complexes. *Plant Physiology*, 1995, 108 : 241 - 246.
- [ 3 ] Lindberg S, Griffiths G. Aluminium effects on ATPase activity and lipid composition of plasma membranes in sugar beet roots. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 267 : 1 543 - 1 550.
- [ 4 ] Zhang G, Slaski J J, Archambault D J, Taylor G J. Aluminum-induced alterations in lipid composition of microsomal membranes from an aluminum-resistant and aluminum-sensitive cultivar of *Triticum aestivum*. *Physiology Plant*, 1996, 96 : 683 - 691.
- [ 5 ] Shen Z, Wang J, Guang H. Effect of aluminum and calcium on growth of wheat seedlings and germination of seeds. *Journal Plant Nutrition*, 1993, 16( 11 ): 2 135 - 2 148.
- [ 6 ] 何龙飞,刘友良,沈振国,王爱勤. 铝对小麦根细胞质膜 ATP 酶活性和膜脂组成的影响. *中国农业科学*, 2001, 34( 5 ): 526 - 531.  
He L F, Liu Y L, Shen Z G, Wang A Q. Effects of aluminum on ATPase activity and lipid composition of plasma membranes of wheat roots. *Scientia Agricultura Sinica*, 2001, 34( 5 ): 526 - 531. ( in Chinese )
- [ 7 ] Brown D J, DuPont F M. Lipid composition of plasma membranes and endomembranes prepared from roots of barley (*Hordeum vulgare* L.) effect of salt. *Plant Physiology*, 1989, 90 : 955 - 961.
- [ 8 ] 苏维埃,王文英,李锦树. 植物类脂及其脂肪酸的分析技术 - TLC-GLC技术. *植物生理学通讯*, 1983, 3 : 54 - 60.  
Su W A, Wang W Y, Li J S. The method for analysis of plant lipids and their fatty acids. *Plant Physiological Communication*, 1983, 3 : 54 - 60. ( in Chinese )
- [ 9 ] 胡章立,李琳,荆家海. 水分胁迫对玉米幼叶生长区细胞质膜 ATP 酶活性的影响. *植物生理学报*, 1993, 19( 2 ): 124 - 130.  
Hu Z L, Li L, Jing J H. The stimulative effect of water stress on the plasma membrane ATPase activity in growing zone of maize leaves. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1993, 19( 2 ): 124 - 130. ( in Chinese )
- [ 10 ] Roughan P G, Butt R D. Quantitative analysis of sulfolipids ( sulfoquinovosyl diglyceride ) and galactolipids ( monogalactosyl and digalactosyl diglycerides ) in plant tissues. *Analytical Biochemistry*, 1968, 22 : 74 - 88.
- [ 11 ] 刁丰秋,章文华,刘友良. 盐胁迫对大麦叶片类囊体膜组成和功能的影响. *植物生理学报*, 1997, 23( 2 ): 105 - 110.  
Diao F Q, Zhang W H, Liu Y L. Changes in composition and function of thylakoid membrane isolated from barley seedling leaves under salt stress. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1997, 23( 2 ): 105 - 110. ( in Chinese )
- [ 12 ] 何龙飞,沈振国,刘友良. 铝胁迫对小麦根系液泡膜 ATP 酶、焦磷酸酶活性和膜脂组成的效应. *植物生理学报*, 1999, 25( 4 ): 350 - 356.  
He L F, Shen Z G, Liu Y L. The responses of ATPase and PPase activities and lipid composition for tonoplast in roots of two wheat cultivars to aluminum stress. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1999, 25( 4 ): 350 - 356. ( in Chinese )
- [ 13 ] Rengel Z. Uptake of aluminum by plant cells. *New Phytologist*, 1996, 134 : 389 - 406.
- [ 14 ] Cooke D J, Burden R S. Lipid modulation of plasma membrane-bound ATPase. *Plant Physiology*, 1990, 78 : 153 - 159.
- [ 15 ] Cevc G. Water and membranes : the interdependence of their physicochemical properties in the case of phospholipid bilayers. *Studia Biophysica*, 1982, 91 : 45 - 52.
- [ 16 ] Chen J, Sucoff E I, Stadelmann E J. Aluminum and temperature alteration of cell membrane permeability of *Quercus rubra*. *Plant Physiology*, 1991, 96 : 644 - 649.
- [ 17 ] Zhao X, Sucoff E I, Stadelmann E J. An alteration of membrane permeability of *Quercus rubra* root cortex cells. *Plant Physiology*, 1987, 83 : 159 - 162.

( 责任编辑 卞海军 )