第3卷 第3期
1997年9月

植物营养与肥料学报
PLANT NUTRITION AND FERTILIZER SCIENCE

Vol.3 No.3
Sep. 1997

# 渗透胁迫下硼对细胞膜的保护作用①

王喜庆　　唐　韬　　汪沛洪

（西北农业大学植物生理生化教研室，陕西杨陵　712100）

**摘　要**

选用秦油2号油菜为供试材料，研究不同硼(B)浓度对植株的生长状况及细胞膜功能的影响。测定结果表明：油菜生长的最适硼浓度为0.5mg/L，B浓度过高或过低对植株抑制严重；在不同水势条件下处理，适宜的B浓度可以降低渗透胁迫对质膜的伤害，提高作物抗旱性。

**关键词**　硼　渗透胁迫　细胞膜

硼(B)是植物体必需的微量矿质营养元素之一，尽管发现其为植物必需矿质营养已七十多年的历史[1]，但B在植物体中主要生理作用了解不多。近年来发现，B可能在细胞膜水平发挥作用，调节着离子、代谢物和激素的跨膜运转[2]。Schon等(1990)发现，把向日葵根系由缺B的介质转移至B适中的介质中，3分钟内质膜有明显的超极化现象；而把向日葵根系、叶片由B适中介质转至无B溶液时则出现膜的去极化和$H^+$分泌降低[3]。缺B导致向日葵叶片中$K^+$、蔗糖、氨基酸等渗透调节物质外渗增加；叶片中补硼可明显降低外泄物质的量[4]。由分离的质膜微囊中也发现膜的完整性及$H^+$泵的正常运转均需要B的参与[5]，证明B对细胞膜结构和功能的完整性有着重要作用。

渗透胁迫对植物伤害的原初位点，人们一般认为是在细胞质膜[6]，渗透胁迫常导致作物质膜透性增加，外渗物质增多。既然B与渗透胁迫对植物的影响均与细胞膜的结构和功能完整性有关，那么，B与渗透胁迫对细胞膜的作用机制是否有相似之处，在渗透胁迫下适当的B浓度能否对细胞膜结构与功能有稳定作用，至今还涉及不多。本研究以油菜为供试材料，探讨在渗透胁迫下B对细胞膜的作用并讨论它们可能的类似作用机制。

## 一、材料与方法

### (一)试验材料

供试品种为甘蓝型油菜秦油2号，由陕西省农垦科研中心提供。种子经10g/L $HgCl_2$表面消毒10分钟，自来水冲洗30分钟，置于铺有润湿滤纸的培养皿上，在昼／夜温度为25/20℃的温箱中，培养6天后移入温室，用Hoagland营养液进行水培，昼夜温度为20～22℃/14～16℃，光照强度120μ mol·$m^{-2}$·$s^{-1}$，每天照光10小时，通气一次5分钟，每6天更换一次营养液。

### (二)试验处理

1. B对植物生长状况及细胞膜功能的影响　水培3周后，待植株长至四叶一心时，将Hoagland营养液中的B

① 西北农业大学青年基金资助项目
收稿日期：1996－08－01

浓度进行调整，使形成0.01mg/L、0.1mg/L、0.5mg/L、1mg/L及10mg/L 5个B浓度梯度，用此5种B浓度营养液分别替换正常Hoagland营养液。待油菜长至五叶一心时，采第一片完全展开叶测定叶面积，植株干重，根、茎长度，膜透性。试验重复3次。

2. 渗透胁迫处理　选择出油菜生长的低、适、高(0.01mg/L、0.5mg/L、10mg/L)3种B浓度，用此3种B浓度的Hoagland营养液培养植株长至四叶一心时，用PEG-6000调节营养液水势至0.2MPa，12小时后采第一片完全展开叶测定膜透性。试验重复3次

(三)测试方法

1. 茎长度、伸长速率及根冠比　用刻度尺计量根、茎长度，求出每天的根、茎伸长速率和根冠比(根冠比＝根长／茎长)。

2. 叶面积　用Li-3000叶面积测定仪测定。

3. 干重、相对含水量、膜透性的测定　均采用常规方法，按西北农业大学植物生理生化教研室编(1987)《植物生理学实验指导》方法测定。

4. 低B处理叶片浸泡补B后膜透性的测定　把低B处理(0.01mg/L)的第一片完全展开叶片浸入0.5mg/L的B液中，浸泡时间分别为0、30、60、90、120、150分钟，到浸泡时间，迅速取出叶片，去离子水冲洗2次，然后测定第一片完全展开叶膜透性。

5. $H^+$-ATPase活性测定　参照Kasamo(1986)方法[7]略加修改。用第一片完全展开叶测定，以35mmol/L $K_2SO_4$、4.0mmol/L $MgSO_4$、70mmol/L Tris-HCl、0.15mmol/L $Na_2MnO_4$和0.03%的Triton X-100混合液做反应介质，以6mol/L $H_2SO_4$、25g/L钼酸铵、100g/L抗坏血酸和蒸馏水按1:1:1:2的比例混合作定磷试剂。样品和对照中加入反应介质及ATP，标准液中不加ATP而加0.5mmol/L的$KH_2PO_4$，然后于37℃在水浴中保温10分钟，迅速将溶液与组织分离，向溶液中加入同体积的定磷试剂，30℃水浴中保温10分钟，冷至室温后于660nm处比色测定E值，比活(Pi)以μ mol·$mg^{-1}$·$min^{-1}$表示。

$$比活=\frac{E_{样品}\times 0.5\mu mol\cdot L^{-1}(KH_2PO_4)}{E_{标准}\times 10分钟\times mg干物质}$$

## 二、试验结果

### (一)B对植物生长状况的影响

干重是衡量作物生物产量的重要指标，它反映了作物的生长强弱。表1表明0.5mg/L B浓度下干重最大，B浓度偏高或偏低，干重则变小，对植物的抑制较严重。叶面积是细胞分裂和伸长的结果，叶片是植物进行光合作用的主要场所，叶面积的大小直接反映了植株同化能力。表1显示，0.5mg/L B浓度下，叶面积最大，B浓度偏低或偏高，叶面积变小。

表 1　不同B浓度对植株干重、叶面积的影响

Table 1　The influence of different B concentrations on shoot weight and leaf area

| 项目 Item | B浓度 B concentrations(mg/L) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0.01 | 0.1 | 0.5 | 1 | 10 |
| 干重(g/株) | 0.0945 | 0.1154 | 0.1278 | 0.1143 | 0.1104 |
| 叶面积($cm^2$) | 5.320 | 6.187 | 6.564 | 5.168 | 5.135 |

不同B供给下，油菜的根伸长速率，根冠比均有明显差异，而茎伸长速率无明显差异。在0.5 mg/L B浓度下，植株根伸长速率、根冠比最大，B浓度偏低或偏高，根伸长速率与根冠比趋于变

小(表2)。根伸长通常作为判断油菜苗期硼丰缺与否的指标[8]。据此表明,0.5mg/L为油菜幼苗生长的最适B浓度,而0.01mg/L,10mg/L为油菜幼苗生长的缺乏和毒害B浓度。

表 2 不同B浓度对油菜根、茎伸长速率及根冠比的影响

Table 2 The influence of different B concentrations on root,shoot growth rate and root/shoot

| B浓度(mg/L) B concentrations | 根伸长速率(mm/d) Root growth rate | 茎伸长速率(mm/d) Shoot growth rate | 根冠比 Root/Shoot |
|---|---|---|---|
| 0.01 | 0.040 | 0.083 | 0.4819 |
| 0.10 | 0.053 | 0.082 | 0.6463 |
| 0.50 | 0.110 | 0.083 | 1.3253 |
| 1.00 | 0.060 | 0.073 | 0.8219 |
| 10.00 | 0.053 | 0.080 | 0.6625 |

## (二)B对细胞膜功能的影响

随着B浓度由低到高,膜透性(PMP)及$H^+$-ATPase活性都呈一定规律变化。对膜透性来说,适量B浓度(0.5mg/L)膜透性最低,为13.79%,B供给浓度偏高或偏低,膜透性则增大,对膜的伤害也大。多重比较表明,0.01mg/L,1mg/L,10mg/L B处理间差异并不显著,但都与0.5mg/L,0、1mg/L B处理达1%显著,0.5mg/L与0.1mg/L B处理间差异不显著(图1)。

$H^+$-ATPase是高等植物原生质膜的主要成分,在植物生命活动中享有主宰酶之称。$H^+$-ATPase对植物许多重要生理功能起调控作用,如控制细胞内pH环境,促进离子运输,产生电化学势梯度。从图2看出,B浓度由低到高,$H^+$-ATPase呈现低→高→低变化,但高B(10mg/L)时略有升高。多重比较表明,0.5mg/L B供给下的$H^+$-ATPase活性除与0.1mg/L达5%显著外,与其它处理均达1%显著。

通过以上对膜透性及$H^+$-ATPase活性的变化规律综合分析,确证B的作用位点在于细胞膜上,适宜B浓度可以保护细胞膜的稳定性,提高$H^+$-ATPase的活性,缺B会导致PMP升高。

为检查B是否直接对细胞膜发生作用,我们把低B浓度(0.01mg/L)下生长的植物叶片进行补B(0.5mg/L)处理。结果表明,随着浸泡时间的延长,水浸泡下的膜透性呈无规律波动,且差

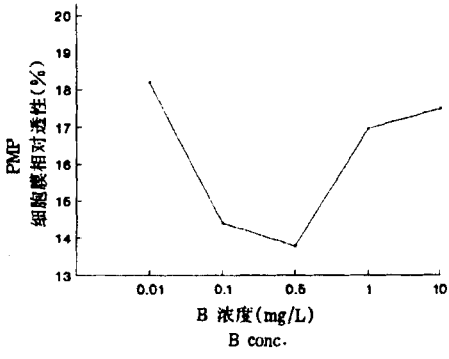


图1 不同B浓度对膜透性的影响

Fig.1 The effect of different B concentrations on the plasma membrane permeability

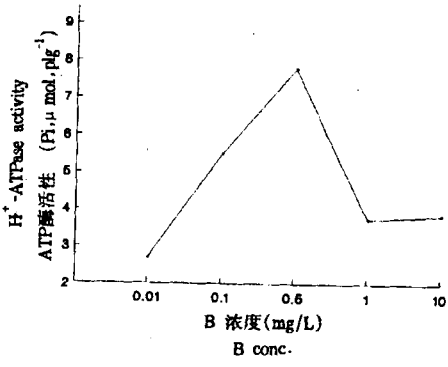


图2 不同B浓度对$H^+$-ATPase活性的影响

Fig.2 The effect of differt B concentrations on $H^+$-ATPase activity

异很小，可认为是误差所致；在0.5mg/L B溶液中浸泡下，1小时内，随着浸泡时间延长，膜透性急剧下降，当浸泡超过1小时后，膜透性变化趋于平稳(图3)。可见，膜透性的变化非水的作用，而是由B引起的。由此也说明了B对膜的修复和保护确有积极作用。

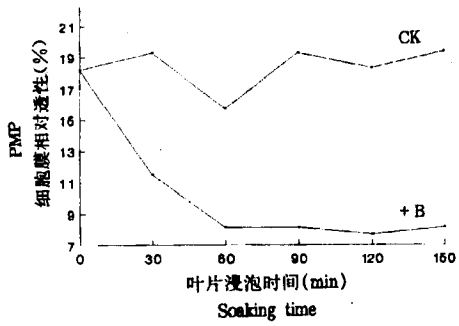


图3 低B处理(0.01mg/L)叶片浸泡补B(0.5mg/L)后膜透性的变化

Fig.3 Effect of optimum B supply on the plasma membrane permeability of isolated leaves with deficient supply of B

**(三)渗透胁迫下B对细胞膜的作用**

相对含水量(RWC)是植物水分亏缺的重要指标之一。从表3看出，在0.2MPa水势下，各处理都较对照下降；B浓度为0.01mg/L下较对照下降10.26%，B浓度为10mg/L下较对照下降10.54%，B浓度为0.5mg/L下较对照下降8.66%。按Hsiao(1973)对中生植物水分亏缺程度划分标准，相对含水量减低8%～10%为轻度亏缺，相对含水量减低10%～20%为中度亏缺。据此，在渗透胁迫下，0.5mg/L B浓度下水分为轻度亏缺，0.01及10mg/L B浓度下，水分为中度亏缺。由此说明，适B可减小植物水分亏缺程度，降低渗透胁迫对植物的伤害，提高作物抗旱性。

渗透胁迫下，各处理的膜透性、$H^+$-ATPase活性均比对照发生明显变化。适宜的B浓度可以降低渗透胁迫下膜透性，提高质膜 $H^+$-ATPase的活性。方差分析显示，对 $H^+$-ATPase活性而言，B浓度与水势二因素差异都达极显著标准，B浓度与水势交互效应差异未达到显著标准。膜透性多重

表 3　渗透胁迫下不同B浓度对植物相对含水量的影响

Table 3　Influence of optimun B concentrations on relative water content under osmotic stress

| B浓度 B concentration(mg/L) | 0.01 | | 0.50 | | 10.00 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 水势 Water potential (MPa) | 0.05 | 0.20 | 0.05 | 0.20 | 0.05 | 0.20 |
| 相对含水量 RWC(%) | 85.75 | 75.49 | 89.97 | 81.31 | 84.24 | 73.7 |

表 4　渗透胁迫下不同B浓度对膜透性、$H^+$-ATPase的影响

Table 4　The effect of different B concentrations on plasma membrane permeability and $H^+$-ATPase activity under osmotic stress

| B浓度 (mg/L) B concentrations | 0.01 | | 0.50 | | 10 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 水势 (MPa) Water potential | 0.05 | 0.2 | 0.05 | 0.2 | 0.05 | 0.2 |
| 膜透性(%) | 10.49 | 16.93 | 9.67 | 13.20 | 13.35 | 18.35 |
| $H^+$-ATPase活性 ($\mu$ mol · $mg^{-1}$ · $min^{-1}$) | 2.425 | 1.413 | 4.726 | 2.166 | 2.802 | 1.865 |

比较表明，在渗透胁迫下，0.5mg/L B浓度下的膜透性与0.01mg/L及10mg/L都达1%显著外，10mg/L与0.01mg/L反而变成差异不显著。也即说明，0.5mg/L B浓度，可降低渗透胁迫下膜透性的增大。

为进一步确定B在渗透胁迫下是否对细胞膜有保护作用，我们选择渗透胁迫下缺B幼苗进行离体补B试验，结果如图4所示。从渗透胁迫后浸泡补B(0.5mg/L)和正常水势低B处理(0.01mg/L)浸泡补B(0.5mg/L)的膜透性变化规律来看，它们的变化趋势相同，随着浸泡时间的延长，膜透性均减小然后趋于平稳。但渗透胁迫处理后，随水浸泡时间的延长，在1小时内，膜透性也随着降低。这大概是补水导致了一些在渗透胁迫下受损的细胞器得到恢复，这给我们确认B的功能增加了难度，但从曲线变化趋势可以看出B依然在起作用。

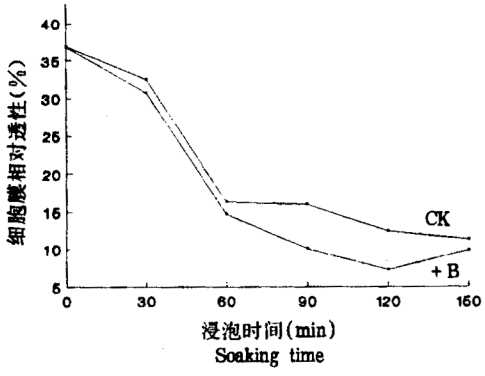


图4 渗透胁迫下，低B处理(0.01mg/L)离体幼苗浸泡补B后膜性透的变化

Fig.4 Effect of optimum B suppy on the plasma membrane permeability of isolated seedling with deficient supply of B under osmotic stress

## 三、讨 论

1. 缺B导致主根和次生根生长抑制或停止的现象是植物对缺B的快速反应。这可能是缺B导致根中IAA(吲哚乙酸)氧化酶活性升高，IAA氧化酶催化IAA降解，从而降低了质膜$H^+$泵的活性，引起细胞的延伸生长受阻，导致根生长量降低[9]。缺B导致细胞延伸生长下降也可能是叶面积降低的机制之一[9]。

2. 无论在正常还是渗透胁迫下，缺B导致细胞膜透性升高，ATP酶活性降低(图1、图2)，而对叶绿体膜影响不大。膜内$K^+$、蔗糖、氨基酸渗漏量增加，这也是许多植物细胞对缺B的共同反应[10]。补B可降低细胞膜透性，清楚地表明B对细胞膜的结构、功能完整性有重要作用(图3)。一般认为B在细胞膜上可与细胞膜组分如糖蛋白、糖脂形成顺二元醇复合物，对细胞膜的稳定性起保护作用[2,11]。最近的研究表明缺B常导致酚类物质的合成增加，抑制细胞壁合成中对酚类物质的利用[12]，酚类物质的累积刺激多酚氧化酶活性(这是缺B植株常观察到的现象[13])。酚类物质的酶和非酶氧化常产生诸如$O_2^-$，$OH^-$等活性氧自由基，活性氧自由基对细胞膜蛋白、脂类有严重的伤害作用，从而导致生物膜结构破坏，膜透性增加[14]。渗透胁迫对细胞膜的伤害目前也认为是由于活性氧的积累对细胞膜的伤害[6]，这可能是渗透胁迫下缺B导致细胞膜透性急剧增加的共有机制。

渗透胁迫下造成产生自由基的物质主要是酚类物质的累积，补B以后，B可以与酚类物质形成酚一硼复合物[15]，使酚类物质不能进一步氧化形成自由基，这可能是B在渗透胁迫下对细胞膜起到保护作用的机制，提高作物抗旱性的原因所在。但过高的B浓度，为什么不能起到保护细胞膜的作用，还有待进一步研究。

## 参 考 文 献


1 Warington K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. Ann. Bot., 1923, 37:629～672.

2 Shep BJ. Physiology and biochemistry of boron in plants. In Boron and its role in crop protection. CRC Press, Boca Raton. FL. ISBN 0-8493-6582-1, 1993,53～85.

3 Schon MK, Novacky A. Boron induces hyperplolanzation of sunflower root cell membranes and increases membrane permeability to $K^+$. Plant Physiol., 1990. 93:566～571.

4 Blaseer-Grill J, Knoppik D, Amberger A. Influence of boron on the membrane potential in Elodea densa and Helioathus anus roots and $H^+$ extrusion of suspension cultured Daucus carrot cells. Plant Physiol., 90:280～284.

5 Ferrot N, Belver A, Roldan M, Rodrigvez-Rosales MP. Effects of boron on proton transport and membrane properties of sunflower cell microsomes. Plant Physiol., 103:763～769.

6 简令成,孔龙华,龙德兰. 小麦质膜及液泡膜的ATP酶活性在抗寒锻炼中的变化.实验生物这学报,1983,16(2):133.

7 Kasamo K. Comparison of plasma membrane and tonoplast $H^+$ translating ATPase in *phaseolus mango* L. Roots. Plant Cell Physiol., 1986, 27(1):49～59.

8 薛建明,杨玉爱. 不同油菜基因型对缺B反应的差异.浙江农业大学学报,20(4):422～426,694.

9 Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, Orllando, 1986:324.

10 Tang PM, DE La Fuente. The transport of yindok-3-Acetic acid in boron-and calcium-deficient sunflower hypocotyl segments. Plant Physiol., 1986, 81:646～650.

11 Parr AJ & Loughman BC. Boron and membrane function in plants. In metals and micronutrients, uptake and utilization by plants. Academic press New York, NY, ISBN 0-12-589580-1, 1983, 87～107.

12 Loomis WD. Boron and cell walls. Cur. Topic plant Bioder. Physiol., 1991, 10:149～178.

13 Shkolnik MY, Krupnikora TA, Smimow YS. Activity of polyphenol oxidase and sensitivity to boron defiency. in sov Plant Physiol. (Eng Transl), 1981, 28:279～283.

14 Appel HM. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. J. Chen. Ecol., 1993, 19:1521～1552.

15 Cakmak I, Kurz H, and Marschner H. Shorter effects of boron, germanium and high light density on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower-Physiologla. Plantarum, 1995, 93:11～18.


# THE PROTECTION OF BORON ON PLASMA MEMBRANE UNDER OSMOTIC STRESS


Wang Xiqing Tang Tao Wang Peihon

*(Section of Plant Physiology & Biochemistry, Northwestern Univ. of Agric. Yangling, Shaanxi 712100)*


## Summary


Rape (*Brassica napus*) No.2 Qinyou, the sensitive species to boron deficiency is chosen as test material. Shoot and root length, plant dry weight, leaves area and plasma memmbrane permeability were measured. Effect of optimum B supply on the plasma membrane permeability of isolated leaves with deficient supply of B under osmotic stress were also measured. Boron function is studied under normal condition and osmotic stress. Result indicated that 0.5mg/L is the optimum concentration to rape growth, no matter which concentrations are lower and higher than 0.5mg/L, plasmma membrane function are hurted under osmotic stress. Optimum B concentration could reduce the hurt of osmotic stress, improve its resistant to drought.



**Key words** Boron Rape(*Brassica napus*) Plasma membrane