

# 氯化胆碱对多种逆境下作物膜稳定性的影响

陈以峰\*                      周  燮  
 (南京农业大学农学系, 南京  210095)

摘  要  用 200mg/L 氯化胆碱短时(6h)与长时(48h)浸种可使盐棉 48 在 19℃低温下的萌发率提高 63.6%与 111.8%,长时(48h)浸种使冀单 23(玉米)在 7℃低温下的萌发率提高 130.3%,100mg/L 氯化胆碱还使低温下黄瓜胚根生长抑制得到明显缓解。氯化胆碱的这些效应与其使低温下萌发种子、玉米及小麦幼叶膜透性降低密切相关。氯化胆碱也降低了水渍与黑暗、干旱胁迫下黄瓜子叶、小麦幼叶的膜透性。推测氯化胆碱增强多种逆境下的膜稳定性可能是通过防止膜及细胞内失水、修复膜结构、保护膜酶活性而实现的。  
 关键词  氯化胆碱  低温  干旱  逆境  膜稳定性

早已认为膜系统是对各种环境胁迫的共同响应位点<sup>[8]</sup>,但迄今对其响应机制了解得还不充分。已知各种环境胁迫下膜透性均会增加<sup>[4]</sup>。因此研究逆境条件下膜系统的稳定机制具有重要的理论与实践意义。氯化胆碱(choline chloride, 简称 CC)是胆碱类的一种小分子活性物质。胆碱是膜磷脂极性基成分之一,并已发现外施的 CC 可在小麦幼苗体内转变成磷脂酰胆碱和甜菜碱<sup>[5]</sup>,提示 CC 对维护膜的稳定性可能具有重要作用。已经观察到 CC 能够改善作物的多种正常生理活动<sup>[2,6]</sup>,包括促进水稻、小麦幼苗生长,提高光合速率,改善玉米籽粒及甘蔗茎的品质等等。但对逆境条件下 CC 对作物膜稳定性影响的了解不多。Guye 等<sup>[7]</sup>初步发现胆碱类物质能增加绿豆幼苗耐冷性。本研究旨在进一步在萌发种子及黄瓜胚根、玉米、小麦幼叶上对其加以验证,并观察水渍与黑暗、干旱胁迫下 CC 对黄瓜子叶、小麦幼叶膜透性的影响,以确定多种逆境下 CC 维护作物膜稳定性的效应,为深入研究其作用机理奠定基础。

## 1  材料和方法

种子萌发及 CC 处理  盐棉 48 号种子经硫酸脱绒后,挑选大小一致的种子置预先放一层滤纸的培养皿内,经 19℃预处理 6h 后置 30℃恒温下萌发。挑选大小一致的冀单 23 号籽粒,先用自来水冲洗干净,然后置入放有一层滤纸的培养皿内,经 7℃预处理 3h 后,置 25℃恒温下萌发。两种种子均加入去离子水(DW)或 DW 配成的 CC 液。棉花、玉米种子分别于萌发 48h、72h 时统计发芽率。玉米种子经 200mg/L CC 处理 48h 后移至 DW 中,24h 后,再换一次 DW(5.5ml/培养皿),浸润 1 天(第 72~96h),分别测定其电导率与 264nm 处吸收值。

1995-07-12 收稿。  
 \* 现在地址: 武汉大学生命科学学院植物生殖生物学研究室, 武汉  430072

黄瓜胚根生长及 CC 处理 津研 4 号黄瓜种子在 28℃ 黑暗下萌发, 一部分种子预先置 7℃ 6h 或 7℃ 6h 处理的同时加 100mg/L CC 浸润, 萌发 36h 后量取胚根长度。在另一个实验中低温改为 19℃, CC 浓度改为 200mg/L, 萌发 48h 时称取胚根干重。

玉米幼叶低温处理 苏玉一号籽粒萌发后, 播入 Hoagland 氏培养液砂培, 第 1 真叶出现时向培养液加 400mg/L CC, 至第 3 真叶出现为止。取第 1 真叶上半部, 用 DW 洗净, 切成 0.3cm × 1.0cm, 称 0.7g 加 20ml DW, 上覆滤纸, 抽气 20min, 置 4℃ 冰箱中 0~96h, 测定电导率。

小麦幼叶低温及干旱处理 将宁麦 3 号种子萌发后置 Hoagland 氏培养液砂培, 自第 1 真叶期开始至第 4 真叶出现, 浇以含 400mg/L CC 的培养液。取第 1 真叶, DW 洗净, 切成 0.2cm 长, 称取 0.2g 加 10ml DW, 抽气, 置 4℃ 下 0~48h 后测定电导率。另一部分幼苗第 4 真叶出现后把砂钵从培养液中移去(砂钵原放在盛培养液的搪瓷托盘中以防失水), 自然干旱 0~4 天, 依上述方法, 逐日切取第 1 真叶, 抽气后 RT 下静置 30min 测电导率值。

黄瓜子叶水渍与黑暗处理 将 3 日龄黄化黄瓜苗用 50mg/L CC 浸泡 48h 后, 对照与处理分别取 12 对子叶置直径为 6cm 培养皿中加 3ml DW, 于 25℃ 黑暗下浸渍 0~120h, 测定其 DW 中电导率值变化。

电导率用 BSA-D 型数字式电导仪(江苏泰县分析仪器厂)测定。用岛津紫外-可见分光光度计测定 DW 中的紫外吸收(OD<sub>264nm</sub>)。

## 2 结果与分析

### 2.1 CC 对低温下种子萌发及胚根生长的影响

表 1 CC 对低温下棉花、玉米种子萌发率的影响

品 种	处 理	萌发率(%)
棉花(盐棉 48)	19℃, DW, 6h 30℃, DW, 42h	28.0*
	19℃, 200mg/L CC, 6h 30℃, DW, 42h	45.8
	19℃, 200mg/L CC, 6h 30℃, 200mg/L CC, 42h	59.3
玉米(冀单 23)	7℃, DW, 3h 25℃, DW, 45h	33.3**
	7℃, 200mg/L CC, 3h 25℃, 200mg/L CC, 45h	76.7

\* 盐棉 48 种子于 48h 时测算萌发率, 每处理约 50 粒; \*\* 冀单 23 籽粒于 96h 时测算萌发率, 每处理约 30 粒, 萌发率(%) =  $\frac{\text{胚根} \geq 1\text{cm 的萌发种子数}}{\text{浸种总数}} \times 100$ , DW 为去离子水。

如表 1 所示, 低温短时处理下两作物种子的萌发率在 30% 左右, 低温处理期间若加入 200mg/L CC 使盐棉 48 萌发率增加了 63.6%, 延长 CC 处理时间可使两作物种子的萌发率提高一倍以上, 表明氯化胆碱能够减轻低温对种子萌发的抑制。

氯化胆碱对低温下黄瓜胚根生长也有明显的影响。如表 2 所示, 黄瓜种子萌发时经 7℃ 或 19℃ 的短时低温处理, 到萌发 36h 或 48h 时胚根长度与干重已明显下降, 分别降低了 46.4% 与 20.9%, 低温胁迫时, 加入 100mg/L CC 能够明显缓解低温对黄瓜胚根生长的抑制, 使胚根长度恢复了 53.3%, 且胚根干重已基本恢复。上述结果说明了 CC 具有缓解低温胁迫的效应。

### 2.2 CC 对低温下萌发种子及幼叶膜稳定性的影响

CC 缓解低温胁迫的效应是否与其增强低温下膜的稳定性有关? 为此, 我们以萌发的玉米

种子及玉米、小麦幼叶为材料作了检验。表3 结果表明短时低温处理使萌发种子外渗液中电导率及紫外吸收物质增加,而 200mg/L CC 处理则可降低外渗液中的电导率与紫外吸收值,说明 CC 能够维持低温下萌发种子的膜稳定性。

表 2 CC 对低温下黄瓜胚根生长的影响

品种	处 理	36h 时胚根长 (mm/ 种子)	48h 时胚根干重 (mg/ 种子)
津 研 4 号	28 , DW , 36h	28 ± 1. 9 <sup>a</sup>	— <sup>b</sup>
	7 , DW , 6h 28 , DW , 30h	15 ± 1. 9	—
	7 , 100mg/ L CC , 6h 28 , DW , 30h	23 ± 3. 1	—
	30 , DW , 48h	—	1. 34 <sup>c</sup>
	19 , DW , 6h 30 , DW , 42h	—	1. 06
	19 , 200mg/ L CC , 6h 30 , DW , 42h	—	1. 33

注: a. 每处理重复 9 ~ 11, 处理间均在 P<sub>0.01</sub>水平差异显著; b. 表示未测; c. 每处理 20 条根; DW—去离子水。

表 3 CC 对低温下萌发玉米籽粒渗出电解质与紫外吸收物质的影响

品种	处 理	电 导 率 ( μS/ cm)	OD264nm
冀 单 3	25 , DW , 48h	26. 9	0. 396
	7 , DW , 3h 25 , DW , 45h	28. 4	0. 418
	7 , 200mg/ L CC , 3h 25 , 200mg/ L CC , 45h	25. 3	0. 402

注: 萌发 72 ~ 96h 期间 5. 5ml 去离子水中每粒籽粒渗出物的电导率与 OD264nm 值; 每处理 30 粒。DW—去离子水。

将三叶期苏玉 1 号的第 1 真叶剪下放入去离子水中抽气后置 4 下 0 ~ 96h, 结果表明(图 1), 随着低温胁迫延长, 低温伤害率均呈上升趋势, 但经 400mg/L CC 预处理的玉米幼叶, 其伤害率上升幅度明显低于对照, 并且随着低温处理延长, CC 使伤害率降低的效应越明显, 如伤害率从处理 12h 时比对照下降 11. 6%, 处理 96h 时则比对照下降 24. 3%。从而表明 400mg/L CC 能够降低低温下玉米叶片的膜透性。

表 4 CC 预处理对低温下小麦幼叶膜透性的影响

4 处理时间 (h)	电 导 率( μS/ cm)		变化率 ( %)
	对照	400mg/ L CC	
0	131. 6	139. 3	+ 5. 8
24	165. 9	140. 8	- 15. 1
48	512	454	- 11. 3

注: 材料为空麦 3 号第 1 真叶。

在小表幼叶也观察到 CC 具有降低低温下膜透性的能力(表 4), 四叶期宁麦 3 号的第 1 真叶经 24h 或 48h 的 4 低温处理, 处理液的电导率逐渐上升, 而幼苗经 400mg/L CC 预处理后降低了叶片浸出液的电导率值。上述结果均一致地表明了 CC 具有降低低温下膜透性的作用, 从而说明 CC 缓解低温胁迫的效应与其增强低温下膜稳定性密切相关。

2. 3 CC 对水渍与黑暗下黄瓜子叶膜稳定性的影响

3 日龄黄化黄瓜子叶在水渍与黑暗下极易衰老, 膜透性增加是其衰老的显著标志。从图 2 可以看出, 随着水渍与黑暗胁迫时间延长, 对照的浸出液电导率值(K) 比 50mg/L CC 预处理的电导率值明显升高, 到胁迫处理第 4 ~ 5 天, 对照的 K 值比 CC 预处理的 K 值高 1. 95 ~ 4. 04 倍, 表明 CC 预处理能有效地防止水渍与黑暗下黄瓜子叶膜系统遭到严重破坏。

2. 4 CC 对干旱胁迫下小麦幼叶膜稳定性的影响

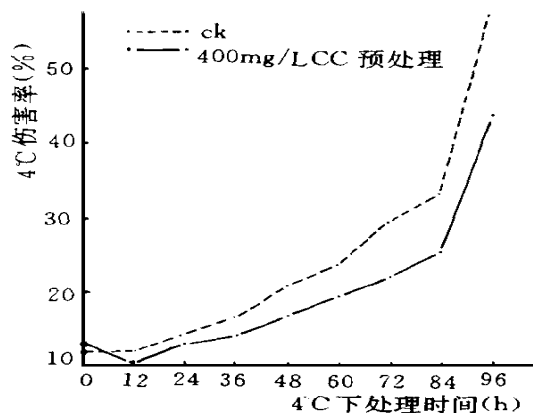


图1 CC 预处理对低温下玉米幼叶膜透性的影响

材料: 苏玉 1 号第 1 真叶; 伤害率 (%) =  $\frac{4 \text{ 下电导率值}}{\text{煮沸后电导率值}} \times 100$

干旱胁迫下细胞失水, 导致膜结构损伤, 使膜透性增大。图 3 揭示了 400mg/L CC 预处理能显著降低小麦第 1 真叶在自然干旱下的膜透性, 使其电导率明显降低, 表明 CC 也能有效维持干旱胁迫下膜的稳定性。由此说明, CC 能够延缓多种逆境下作物膜透性增加、从而起到维持膜稳定性的作用, 值得今后探究其作用机理。

### 3 讨论

前人研究表明, 各种逆境下膜透性均增加<sup>[4]</sup>。本文检测了低温、水渍与黑暗、干旱下膜透性变化, 结果与之相一致。膜透性增加的原因之一是失水引起膜构象改变, 失水严重时, 膜结构遭到破坏。因此能够防止失水或修复膜结构的物质有可能阻止逆境条件膜透性增加。CC 可在小麦幼苗体内转变为磷脂酰胆碱(PC)与甜菜碱<sup>[5]</sup>。甜菜碱能够提高细胞渗透势, 防止细胞失水, PC 中的胆碱极性基团与水分子结合牢固可防止膜失水, 从而 CC 有可能防止膜构象改变。另一方面, CC 进入植物体内转变成的 PC 可能对遭到破坏的膜结构起到修复作用。已有证据表明, 细胞内 PC 含量增加与耐冷、耐冻、耐盐能力提高密切相关<sup>[1,4]</sup>, 并且逆境条件下 PC 等磷脂含量增加能保护膜酶正常功能。宓容钦等<sup>[2]</sup>发现玉米根端线粒体上添加脂肪酸饱和度相同的 PC 后, 线粒体 ATPase 活化能的折点温度由 15.5 下降到 13, 说明添加 PC 能够提高较低温度下 ATPase 活性。Palta<sup>[9]</sup>认为质膜 ATPase 是胁迫响应的关键位点, 提高 ATPase 活性对增加膜系统稳定性可能具有重要作用。因此通过这些讨论, 推测上述 CC 降低多种材料在多种逆境下的膜透性, 可能与其防止膜及细胞失水、修复膜结构、提高膜酶活性有关, 具体作用机制有待进一步研究。

鸣谢 河北省农林科学院国鹰先生提供冀单 23 号玉米种子, 特此致谢。

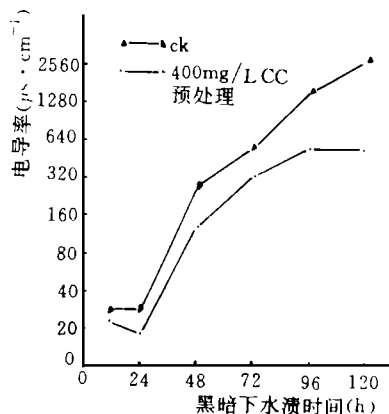


图2 CC 预处理对水渍与黑暗下黄瓜子叶膜透性的影响

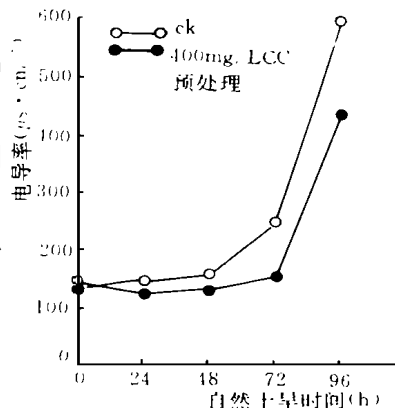


图3 CC 预处理对自然干旱下小麦幼叶膜透性的影响

材料: 宁麦 3 号第 1 真叶

## 参 考 文 献

- 1 刘友良,毛才良,汪良驹.植物耐盐性研究进展.植物生理学通讯,1987,(4):1~7
- 2 宓容钦,李锦树,王洪春.生物膜组分对膜功能和膜脂相变的调控.磷脂脂质体对玉米根端线粒体ATP酶活力的影响.植物生理学报,1983,9:217~222
- 3 农友业,何若天.氯化胆碱对甘蔗光合性能及糖含量的影响.广西农业大学学报,1994,19(4):337~344
- 4 王洪春编著.生物膜结构功能和渗透调节.上海:上海科学技术出版社,1987,7~18,57~58,64~65
- 5 Che F-S et al. Metabolism of choline chloride and its analogs in wheat seedlings. Plant Cell Physiol, 1990, 31(1):45- 50
- 6 Che F-S et al. Stimulation of photosynthesis and growth of photoautotrophically cultured plant cells by choline and its analogs. Plant Cell Reports, 1993, 12:691- 697
- 7 Guye MG, Vigh L, Willson JM. Choline induced chill-tolerance in mung bean(*Vigna radiata* L. Wilcz). Plant Science, 1987, 53:223- 228
- 8 Levitt J. Responses of plants to environmental stresses. Vol. 1, Chilling, freezing, and high temperature stresses. New York: Academic Press, 1980
- 9 Palta JP. Stress interactions at the cellular and membrane levels. Hort Science, 1990, 25( 11): 1377- 1381

## Effect of Choline Chloride on Membrane Stability of Crop Plants under Multiple Stresses

Chen Yifeng      Zhou Xie

(Department of Agronomy, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

**Abstract** It was observed that percentages of germination of cotton seeds(cv, Yanmian 48) at 19 °C and corn grains(cv, Jidan 23) at 7 °C could be greatly increased by 111.8% and 130.3% respectively with treatment of choline chloride (CC) at 200mg/L for 48h. Treatment with choline chloride at 100mg/L could evidently alleviate inhibition of radicle growth of cucumber (cv, Jinyan 4) under chilling stress. There was close relationship between that CC increased plant tolerance to chilling stress and that CC decreased plant membrane permeability (such as in germinating seeds and immature leaves from corn and wheat seedling) under the stress. It was also observed that CC reduced membrane permeability of cucumber cotyledon under darkness and waterlogging condition and of immature wheat leaves under drought stress. These results had shown that CC could maintain plant membrane stability under multiple stresses. In discussion, it had been speculated that CC might block water loss within membrane or cell, repair membrane structure, and keep membrane enzyme activity under multiple stresses.

**Key words:** Choline chloride; Chilling; Drought; Multiple stresses; Membrane stability