

LaCl₃ 和 CPZ 对磷饥饿番茄液泡膜 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPase 活性的影响

徐 函 兵^{1,2}, 曾 镭¹, 单 树 花^{2,3}, 刘 晶 茹², 宋 克 敏²

(1. 信阳农业高等专科学校, 安徽 信阳 464000; 2. 华中农业大学 植物科技学院, 湖北 武汉 430070; 3. 太原师范学院, 山西 太原 030031)

摘 要: 采用水培法研究了 LaCl₃ 和 氯丙 啉(CPZ)对磷饥饿番茄幼苗液泡膜 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPase 活性的影响。结果表明: LaCl₃ 处理抑制了液泡膜 H⁺-ATPase 活性, 但提高了 H⁺-PPase 活性; 而 CPZ 处理既抑制了液泡膜 H⁺-ATPase 活性, 又抑制了液泡膜 H⁺-PPase 活性。同时, CPZ 处理引起磷饥饿番茄幼苗可溶性蛋白质含量下降, LaCl₃ 处理引起可溶性蛋白质含量增加。

关键词: 液泡膜; H⁺-ATPase; H⁺-PPase; 磷饥饿; 番茄

中图分类号: S 641.204⁺.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)07-0001-04

磷是植物生长发育中最重要的矿质元素之一。而在许多情况下, 磷是最难获得的矿质元素之一, 经常导致植物磷饥饿^[1]。为了适应磷饥饿, 植物在形态和生理上发生了许多变化以提高磷的吸收和利用能力^[2]。在成熟细胞中, 液泡占细胞体积的 80%~90%, 而液泡在胞质溶胶的动态平衡中发挥着重要作用。在磷充足时, 植物细胞把过剩的磷贮存在液泡内, 在缺磷时又释放出液泡中的磷以维持胞质中磷的水平^[3]。自从植物中发现钙调素(Calcium modulator protein, CaM)以来, Ca²⁺作为植物生长发育的第二信使日益受到关注, Ca²⁺-CaM 信使系统是目前研究较多、了解最清楚的一个 Ca²⁺信使系统^[4]。研究表明, CaM 参与植物的光形态建成^[5]、抗逆性的形成^[6,7]、氮素的同化^[8]等多种生理过程。早在 1990 年 Mimuro 等^[9]提到当胞质中 Pi 过量或缺乏时液泡能够自动起到调节作用。单树花等^[10]发现磷饥饿提高了番茄幼苗液泡膜 H⁺-ATPase 活性。现以番茄幼苗为材料, 探讨质膜钙离子通道抑制剂氯化镧(LaCl₃)和钙调素抑制剂氯丙啉(CPZ)对磷饥饿番茄幼苗可溶性蛋白质含量、液泡膜 H⁺-ATPase 和液泡膜 H⁺-PPase 活性的影响, 以期揭示钙信使在适应磷胁迫中的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

第一作者简介: 徐函兵(1970-), 男, 硕士, 现主要从事植物生理教学与研究工作。E-mail: xhb006094@126.com。
责任作者: 宋克敏(1962-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事植物营养生理研究与教学工作。E-mail: skminy@sohu.com。
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170082)。
收稿日期: 2011-01-18

以安徽福斯特种苗有限公司提供的“世纪星”番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill. ‘Shijixing’)作材料。植物材料培养同单树花等^[10]的方法。

1.2 试验方法

将苗龄 2 d 的番茄幼苗, 分别以 20、40、60、80、100 μmol/L CPZ 的 Hogland 无磷溶液培养 3 d, 以 20、40、60、80、100 μmol/L CPZ 的 Hogland 溶液作为对照; 分别以 1.5、20 mmol/L LaCl₃ 的 Hogland 无磷溶液培养 3 d, 以 1.5、20 mmol/L LaCl₃ 的 Hogland 溶液作为对照; 以 20 μmol/L CPZ + 1 mmol/L LaCl₃ 的 Hogland 无磷溶液培养 3 d, 以不含 CPZ + LaCl₃ 的 Hogland 溶液作为对照。

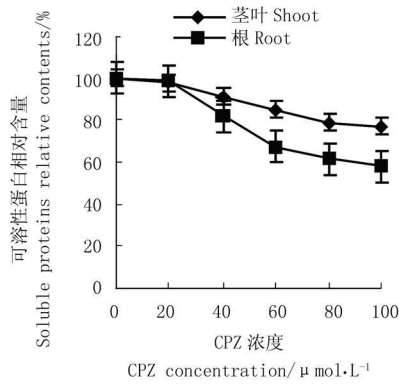
1.3 测试项目与方法

可溶性蛋白提取参照李合生等^[11]的方法。分别取 0.5 g 番茄幼苗根和茎叶作为 1 个样本。液泡膜微囊的制备同单树花等^[10]的方法。蛋白质含量测定参照 Bradford^[12]方法。液泡膜 H⁺-ATPase 和液泡膜 H⁺-PPase 水解活性的测定参照郝鲁宁和余叔文^[13]的方法。0.45 mL 反应系统(150 μL 100 mmol/L Hepes、50 μL 20 mmol/L MgSO₄、50 μL 1 mmol/L (NH₄)₃MoO₄、50 μL 500 mmol/L KCl、50 μL 20 mmol/L ATP-Na₂、50 μL 0.5 mmol/L NaN₃、50 μL 0.5 mmol/L Na₃VO₄、用 1 mol/L Tris 调 pH 至 7.5)中加入 50 μL 膜微囊制剂启动反应, 再加 2.4 mL 无离子水, 37℃温育 30 min。0.1 mL 20% 的 TCA 终止反应, 2 mL 显色液(硫酸亚铁钼酸铵溶液)显色 1 min, 在 660 nm 处用 722 型可见分光光度计测定其吸光度。根据无机磷和蛋白质含量以及反应时间计算其水解活性。液泡膜 H⁺-PPase 水解活性的测定与液泡膜 H⁺-ATPase 水解活性的测定方法相似, 以 0.2 mmol/L Na₄PPi 代替 ATP-Na₂。采用 SPSS 软件进行数

据处理。

2 结果与分析

2.1 CPZ 对磷饥饿期间番茄幼苗可溶性蛋白含量影响



CPZ 处理磷饥饿番茄幼苗体内可溶性蛋白质含量显著下降($P<0.05$); LaCl_3 处理磷饥饿番茄幼苗可溶性蛋白质含量均增加(图 1)。

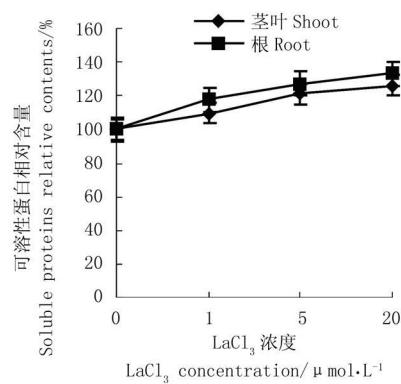


图 1 CPZ 和 LaCl_3 对磷饥饿番茄幼苗可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 1 Effect of CPZ and LaCl_3 on the content of soluble proteins in tomato seedlings during phosphate starvation

2.2 LaCl_3 和 CPZ 对磷饥饿番茄幼苗液泡膜 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPase 活性的影响

LaCl_3 处理对完全营养液培养番茄液泡膜 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPase 活性均没有明显影响($P>0.05$), LaCl_3 处理极显著抑制磷饥饿番茄幼苗液泡膜 H^+ -ATPase 活性($P<0.01$); 5 mmol/L LaCl_3 处理, 磷饥饿番茄

幼苗液泡膜 H^+ -PPase 活性增强 174%(图 2)。分别用 CPZ 和 CPZ+ LaCl_3 处理磷饥饿番茄幼苗, 结果表明 CPZ+ LaCl_3 处理对液泡膜 H^+ -ATPase 活性抑制作用更明显(80%左右); 与液泡膜 H^+ -ATPase 不同, 尽管 CPZ 处理液泡膜 H^+ -PPase 活性稍有下降, 但 CPZ+ LaCl_3 处理 H^+ -PPase 活性却提高了 20%左右(图 3.4)。

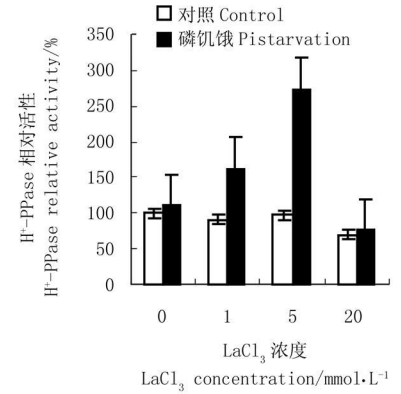
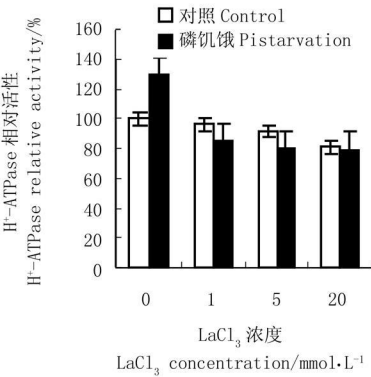


图 2 LaCl_3 对磷饥饿番茄幼苗根的液泡膜 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPase 活性的影响

Fig. 2 Effect of LaCl_3 on tonoplast H^+ -ATPase and H^+ -PPase activities in tomato seedlings during phosphate starvation

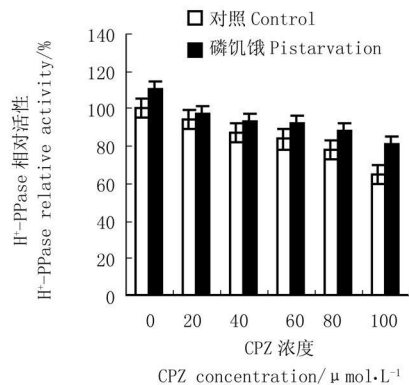
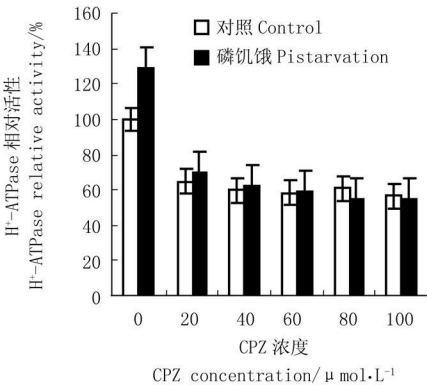


图 3 CPZ 对磷饥饿番茄幼苗根的液泡膜 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPase 活性的影响

Fig. 3 Effect of CPZ on tonoplast H^+ -ATPase and H^+ -PPase activities in tomato seedlings during phosphate starvation

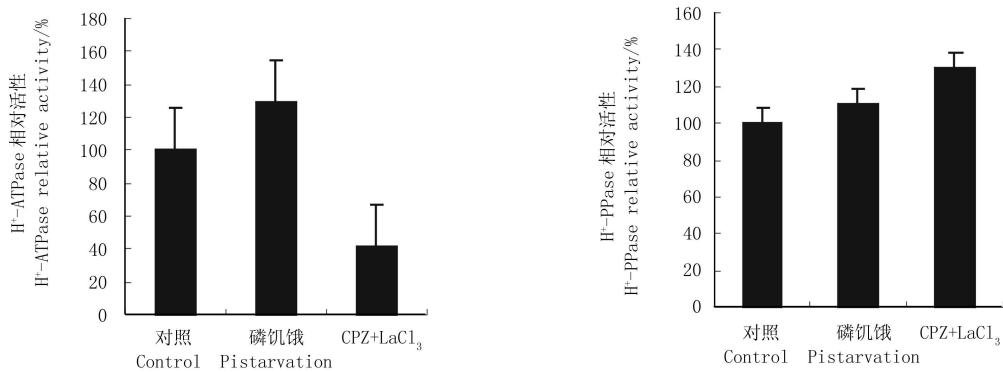


图4 CPZ+LaCl₃ 对磷饥饿番茄幼苗根的液泡膜 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPase 活性的影响

Fig.4 Effect of CPZ+LaCl₃ on tonoplast H⁺-ATPase and H⁺-PPase activities in tomato seedlings during phosphate starvation

3 结论与讨论

Ca²⁺ 和 Ca²⁺ 信使系统参与植物的抗逆反应。外界刺激可改变膜透性和开启 Ca²⁺ 通道,使胞质内 Ca²⁺ 浓度迅速增加, Ca²⁺ 与 CaM 结合活化 CaM 然后激活靶酶,引起相应的生理生化过程,这就是 Ca²⁺-CaM 信使系统的功能^[4]。利用 LaCl₃ 和 CPZ 阻碍 Ca²⁺-CaM 信使传导是目前探索活体内 Ca²⁺-CaM 信使功能常用手段。

已有研究证明,NaCl 胁迫、磷胁迫等环境胁迫能够诱导 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPase 活性变化^[7, 10, 14-16]。磷胁迫是植物常见的一种环境胁迫因子,植物适应磷饥饿的重要机制之一就是提高细胞质膜和液泡膜 H⁺-ATPase 的活性,为无机磷转运提供动力^[10, 14]。试验中 LaCl₃ 和 CPZ 处理极显著抑制磷饥饿番茄幼苗液泡膜 H⁺-ATPase 活性(P<0.01),CPZ+LaCl₃ 处理对液泡膜 H⁺-ATPase 活性抑制作用更明显(80%左右),说明阻碍 Ca²⁺-CaM 信使传导可能加剧磷饥饿对番茄苗的伤害。

该试验表明,LaCl₃ 和 CPZ 处理对完全营养液培养番茄液泡膜 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPase 活性均无明显影响(P>0.05);与液泡膜 H⁺-ATPase 不同,CPZ 处理的液泡膜 H⁺-PPase 活性稍有下降,但 5 mmol/L LaCl₃ 处理的磷饥饿番茄幼苗液泡膜 H⁺-PPase 活性增强 174% (图 2)。CPZ+LaCl₃ 处理的 H⁺-PPase 活性也提高了 20%左右。显然,LaCl₃ 处理抑制了液泡膜 H⁺-ATPase 活性,但提高了 H⁺-PPase 活性;液泡膜 H⁺-PPase 的活性增加可能是对液泡膜 H⁺-ATPase 的活性降低的一种补偿,且这种补偿已经在冷胁迫和盐胁迫中得到证实^[7, 17]。20 μmol/L CPZ 处理对磷饥饿番茄幼苗体内可溶性蛋白质含量基本没有影响。随着 CPZ 处理浓度的增加,可溶性蛋白质含量都显著下降(P<0.05);LaCl₃ 处理磷饥饿番茄幼苗可溶性蛋白质含量均增加。王学奎等^[8]指出 CPZ 能够造成植物氨基酸转化下降,蛋白质合成减缓。而 LaCl₃ 处理引起蛋白质含量增加可能是由于 LaCl₃ 能促进碳、氮代谢^[18],缓解磷饥饿。

参考文献

[1] Clarkson D T, Lüttge V. Mineral nutrition: inducible and repressible nutrient transport system[J]. Prog Bot, 1991, 52: 72-76

[2] Fife C A, Newcomb W, Lefebvre D D. The effect of phosphate deprivation on protein synthesis and fixed carbon storage reserves in Brassica nigra suspension cells[J]. Can J Bot, 1990, 68: 1840-1847.

[3] Lee R B, Ratcliffe R G, Southon T E. 31P NMR measurement of the cytoplasmic and vacuolar Pi content of mature maize roots: relationships with phosphorus status and phosphorus fluxes[J]. J Exp Bot, 1990, 41: 1063-1078.

[4] 孙大业. 植物细胞信号转导研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (2): 81-91.

[5] 龚明, 杜朝昆. 钙与钙调素对玉米幼苗抗旱性的调控[J]. 西北植物学报 1996 16(3): 214-220.

[6] 林善枝, 张志毅, 林元震, 等. 钙—钙调素在零下低温诱导毛白杨扦插苗抗冻性中的作用[J]. 植物生理与分子生物学报 2004, 30(1): 59-68.

[7] 章文华, 刘友良. NaCl 胁迫下大麦根液泡膜 H⁺-ATPase 活性、离子吸收与钙的关系[J]. 植物学报 2002 44(6): 667-672.

[8] 王学奎, 李合生, 伍素辉, 等. CaM 拮抗剂对麦苗氮素同化酶及干重的影响[J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(1): 21-25.

[9] Mimuro T, Dietz K J, Kaiser W, et al. Phosphate transport across bi-membranes and cytosolic phosphate homeostasis in barley leaves[J]. Planta, 1990, 180: 139-146.

[10] 单树花, 宋克敏, 刘晶茹, 等. 磷饥饿下番茄幼苗根系液泡膜 H⁺-ATPase 活性的适应性变化[J]. 植物生理与分子生物学报 2006, 32(6): 685-690.

[11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 178-185.

[12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.

[13] 郝鲁宁, 余叔文. 大麦根细胞质膜 Ca²⁺-ATP 酶和 Ca²⁺ 转运系统的特征[J]. 植物生理学报 1993 19(2): 172-180.

[14] 宋克敏, 焦新之, 李琳, 等. 磷饥饿时番茄幼苗根系质膜 H⁺-ATP 酶活性的变化与磷吸收的关系[J]. 植物生理学报 2001, 27(1): 87-93.

[15] 刘建新, 胡浩斌, 赵国林. NaCl 胁迫对骆驼蓬幼苗液泡膜 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPase 活性的影响[J]. 中国沙漠 2008 28(2): 274-279.

[16] 赵昕, 谭会娟, 丁楠. NaCl 胁迫对盐芥质膜和液泡膜 ATPase 活性的影响[J]. 西北植物学报 2009 29(4): 717-723.

压砂地不同间作模式下土壤水分变化研究

张 战 胜, 付 晓, 康 建 宏, 吴 宏 亮, 许 强, 赵 亚 慧

(宁夏大学 农学院 宁夏 银川 750021)

摘 要:以西瓜|| 辣椒(T₁)、西瓜|| 绿豆(T₂)、西瓜|| 花豆(T₃)、西瓜|| 葱(T₄)等4种间作模式为研究对象,并以当地的西瓜单作(T₅)模式为对照(CK),研究不同间作模式对压砂地土壤水分变化的影响。结果表明:间作对水平方向(50、100 cm)和垂直深度(0~80 cm)土壤水分分布影响较大,使得土壤耗水量加剧,在生长发育后期作物表现出水分亏缺;处理T₄的土壤水分含量和产量均高于对照T₅与其它处理,西瓜|| 葱是非常适宜的间作模式。

关键词: 间作; 土壤水分; 容重; 产量

中图分类号: S 606⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)07-0004-04

土壤水是联系地表水与地下水资源的枢纽,也是土壤的重要性质之一^[1]。它不但直接影响着土壤的特性

和植物的生长,而且也间接影响植物分布,一定程度上影响田间小气候,因而决定了土壤的演化和土地的生产力。目前,针对种植晒砂瓜的新老砂田水分状况研究较为深入,但用于和晒砂瓜轮作倒茬的新型适生作物还没有涉及。近年来,由于砂田种植技术的推广应用,促进了西北地区旱作农业快速、稳定发展,提高了旱农区粮食产量和农民增收,农民投入生产的积极性也明显提高^[2]。但随之而来的大量灌溉和翻耕,导致地下水位下降,砂田板结、盐渍化,生产力急剧下降,乃至退化。研究压砂地新型适生作物的土壤水分状况,不仅能了解各作物的需水规律和水分分布状况,而且能够对砂田的可

第一作者简介: 张战胜(1984),男,陕西澄城人,在读硕士,研究方向为作物栽培和耕作学。E-mail: zzs211314@163.com.

责任作者: 许强(1954),男,教授,硕士生导师,现主要从事耕作学和农业生态学方面的教学与研究工作。E-mail: nxuwheat@163.com.

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD15B05, 2007BAD54B02)。

收稿日期: 2011-01-18

[1] Carystinos G D, MacDonald H R, Monroy A F, et al. Vacular H⁺-translocating pyrophosphatase is induced by anoxia or chilling in seedlings of rice [J]. Plant Physiol, 1995, 108: 641-649.

[18] Huang X H, Zhou Q, Zhang G S. Advances on rare earth application in pollution ecology[J]. J Rare Earths, 2005, 23(1): 5-11.

Effects of LaCl₃ and CPZ on Tonoplast H⁺-ATPase and H⁺-PPase Activities in Tomato Seedlings During Phosphate Ptarvation

XU Han-bing^{1,2}, ZENG Lei¹, SHAN Shu-hua^{2,3}, LIU Jing-ru², SONG Ke-min²

(1. Xinyang Agricultural College, Xinyang, Anhui 464000; 2. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070; 3. Taiyuan Normal University, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract: The effect of calmodulin antagonist chlorpromazine (CPZ) and an inhibitor of Ca²⁺ channel in plasma membrane La³⁺ on the activities of tonoplast H⁺-ATPase and H⁺-PPase of tomato seedlings under phosphate starvation were studied. The results showed that under phosphate starvation, the activities of tonoplast H⁺-ATPase and H⁺-PPase were increased in the roots of tomato seedlings. But this enhancement was abolished by CPZ. Compared with CPZ, treatment with La³⁺ decreased the activity of H⁺-ATPase and enhanced H⁺-PPase activity. Furthermore, CPZ caused the content of soluble proteins decreased but LaCl₃ caused soluble increased in the seedlings during phosphate starvation.

Key words: tonoplast; H⁺-ATPase; H⁺-PPase; phosphate starvation; tomato