

外源钙对根际低氧胁迫下黄瓜植株钾、钙、镁离子含量和ATPase活性的影响

王长义, 郭世荣*, 程玉静, 束 胜, 马月花

(南京农业大学园艺学院, 农业部南方蔬菜遗传改良重点开放实验室, 南京 210095)

摘 要: 以黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) ‘新泰密刺’ 品种为材料, 采用营养液栽培, 研究了外源 Ca^{2+} 对根际低氧胁迫下幼苗植株离子含量和ATPase活性的影响。结果表明, 常钙低氧处理植株体内 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量和质膜、液泡膜、内质网膜ATPase活性显著降低; 营养液增施 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2$ 明显缓解了低氧胁迫对植株的伤害, 根中 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量, 根系质膜、液泡膜、内质网膜 H^+ -ATPase和 Ca^{2+} -ATPase活性, 显著高于常钙低氧处理, 接近或达到对照水平; 根际低氧胁迫下营养液增施 Ca^{2+} 通道抑制剂 La^{3+} ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}^+$) 显著, 降低了幼苗体内 K^+ 、 Ca^{2+} 含量, 但对 Mg^{2+} 含量影响不显著, 营养液增施 La^{3+} 显著降低了质膜 H^+ -ATPase和 Ca^{2+} -ATPase的活性, 但对液泡膜, 内质网膜 H^+ -ATPase和 Ca^{2+} -ATPase活性影响不显著。外源钙通过增加黄瓜体内矿质营养离子的吸收和转运, 维持质膜、液泡膜和内质网膜ATPase活性, 从而缓解低氧胁迫对植株造成的伤害, 增强黄瓜植株的低氧耐性。

关键词: 低氧胁迫; 钙; 黄瓜; 钾; 钙; 镁; ATPase

中图分类号: S 642.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 05-0731-10

Effects of Exogenous Calcium on K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} Content and ATPase Activity in Cucumber Seedlings Under Root-zone Hypoxic Stress

WANG Chang-yi, GUO Shi-rong*, CHENG Yu-jing, SHU Sheng, and MA Yue-hua

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Southern Vegetable Crop Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China)

Abstract: A hydroponic experiment was carried out to explore the effects of exogenous calcium and H^+ on ion content and ATPase activity of cucumber under hypoxic stress. The results showed that K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} contents were significantly lower and plasma membrane, tonoplast, endoplasmic reticulum ATPase activities were significantly decreased under hypoxic stress. Application of $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2$ in nutrient solution significantly alleviated the hypoxic stress, and the K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} contents were significantly higher than those in the hypoxic treatment, while the plasma membrane, tonoplast, endoplasmic reticulum H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase activities were significantly higher than hypoxic treatment and closed to the control level. Application of $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}^+$ in nutrient solution significantly reduced the contents of K^+ , Ca^{2+} , while the content of Mg^{2+} was not significantly differed from the hypoxic treatment. H^+ -ATPase

收稿日期: 2010-01-04; **修回日期:** 2010-04-14

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2009CB119000); 国家自然科学基金项目 (30871736); 现代农业产业技术体系建设专项; 国家科技支撑计划项目 (2008BADA6B07); 江苏省农业三项工程项目 [SX (2008) 026]

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: srguo@njau.edu.cn)

and Ca^{2+} -ATPase activities of plasma membrane were significantly lower than the hypoxic treatment, but the H^{+} -ATPase and Ca^{2+} -ATPase activities of vacuole membrane and endoplasmic reticulum were not significantly differed from the hypoxic treatment. It is suggested that application of exogenous calcium ions can increase the mineral absorption and transport, enhanced the activities of ATPase, and alleviated the hypoxic injury of cucumber and enhanced cucumber tolerance hypoxia.

Key words: hypoxic stress; calcium; cucumber; K^{+} ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; ATPase

不适宜的气候条件、土壤紧实和不合理的灌溉以及无土栽培中根际氧供应不足等会造成植物根系的局部低氧 (Dennis et al., 2000)。氧是线粒体电子传递链最终受体, 有效氧减少会导致细胞代谢途径改变, 并降低了ATP/ADP比值和腺苷酸能荷 (Gibbs & Greenway, 2003)。细胞为应对能量危机通过糖酵解和发酵产生ATP, 并还原 NAD^{+} (Bailey-Serres & Voesenek, 2008)。钙是植物信号传导中的第二信使 (Knight et al., 1991; Evans et al., 2005), 当植物应对环境刺激时, 胞质钙离子浓度的改变是一重要的网络信号。植物体应对生物和非生物胁迫时被观察到短暂的 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 升高, 如冷 (Knight et al., 1996)、盐与干旱 (Knight et al., 1997)、氧应激 (Evans et al., 2005)、光 (Shacklock et al., 1992) 和植物激素 (Allen et al., 2001) 等。氧不足对根系离子流动模式具有重要影响 (Pang et al., 2006)。在玉米遭到水淹时, 根系中钙离子作为信号分子导致ADH和糖酵解基因的激活, 并且在涝害早期 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 短暂上升 (Subbaiah et al., 1994)。研究表明, 外源施用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 可缓解细胞酸中毒, 延长低氧玉米根尖的存活期 (Roberts et al., 1985)。

陆生植物对低氧胁迫比较敏感, 淹水时通常会通过增强地上部生长, 提高碳水化合物和 O_2 的利用率, 以及根和茎部产生通气组织增强体内气体扩散来增强低氧耐性 (Bailey-Serres & Voesenek, 2008)。番茄植株低氧胁迫下叶片光合作用下降, 叶片蒸腾速率和光系统II效率降低 (Klaring & Zude, 2009)。番茄始花期进行低氧处理 (1% ~ 2%), 根系生长受到严重影响, 根系蛋白和碳水化合物含量显著降低, 植株光合作用受到明显抑制, 根与果实中矿质离子含量显著降低 (Horchani et al., 2009)。根际低氧胁迫下, 黄瓜植株生长受到抑制, 鲜质量和干质量显著降低, 根系中蛋白质含量降低而乳酸脱氢酶 (LDH)、丙酮酸脱羧酶 (PDC)、乙醇脱氢酶 (ADH) 活性则显著提高, 并且活性提高程度与幼苗的抗低氧性和 Ca^{2+} 浓度密切相关 (胡晓晖 等, 2005)。

植物体对离子和养分的吸收主要通过细胞膜上的质子泵进行, 细胞膜ATPase在营养离子运输方面扮演着重要角色, 并在细胞扩增和抗盐等生理过程中发挥作用, 但在低氧逆境耐性方面研究较少。本研究通过营养液添加外源 CaCl_2 和钙离子通道抑制剂 H^{+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗体内 K^{+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量, 质膜、液泡膜、内质网膜 H^{+} -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase以及液泡膜 H^{+} -PPase进行研究, 以阐明外源钙在增强黄瓜低氧耐性方面的生理作用。

1 材料与方法

1.1 材料处理

试验于 2009 年 1—6 月在南京农业大学现代化智能温室内进行。以黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) ‘新泰密刺’ 品种为材料。选取整齐饱满的种子, 经消毒、浸种、催芽后, 选取发芽一致的种子播于装有石英砂的塑料盘中, 在昼/夜温度 25 ~ 27 °C/15 ~ 18 °C 的温室内育苗。子叶展平后每天浇灌 1/4 倍 Hoagland 营养液。当幼苗二叶一心时, 选取整齐一致的幼苗定植于装有 1/2 倍 Hoagland 营养液 (Ca^{2+} 浓度为 2 mmol · L⁻¹) 的水箱中, 当幼苗三叶一心时进行低氧处理。

设 4 个处理: 对照组, 用气泵正常通气 ($40 \text{ min} \cdot \text{h}^{-1}$), 维持营养液溶氧浓度 (DO) $8.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右; 常钙低氧组 ($-\text{O}_2$), 用溶氧浓度调节仪 (昆腾, 美国生产) 通入空气控制营养液 DO 值为 $0.9 \sim 1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Ca^{2+} 浓度为 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 高钙低氧组 ($-\text{O}_2 + \text{Ca}^{2+}$), 控制营养液 DO 值为 $0.9 \sim 1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的同时营养液中添加 CaCl_2 使 Ca^{2+} 浓度增至 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 低氧+ La^{3+} 组 ($-\text{O}_2 + \text{La}^{3+}$), 控制营养液 DO 值为 $0.9 \sim 1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的同时营养液中添加 H^+ , 使 La^{3+} 浓度达到 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Ca^{2+} 浓度为 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。分别于处理后的 3 d 和 6 d 取样, 进行膜微囊的制备和离子测定。

1.2 细胞微囊膜制剂的制备和 ATPase 活性的测定

细胞微囊膜制剂的制备参照 Thomson 等 (1993) 的方法略做修改, 取 15 g 新鲜或冷冻样品, 按 1:2 (g:mL) 加入提取液, 匀浆, 四层纱布过滤后 $2\,000 \times g$ 4°C 冷冻离心 10 min, 去除细胞核与叶绿体。将上清液 $13\,000 \times g$ 4°C 冷冻离心 15 min, 上清液 $80\,000 \times g$ 4°C 冷冻离心 30 min, 沉淀为膜制剂, 用悬浮液 I 悬浮后小心铺在 0~10%、22%、30%、45% 的蔗糖梯度溶液上面, $100\,000 \times g$ 4°C 冷冻离心 2 h, 10%~22% 间组分为液泡膜微囊制剂, 22%~30% 间组分为内质网膜微囊制剂, 30%~45% 间组分为细胞质膜微囊制剂。梯度离心样品用注射器吸出后加等体积的悬浮液 II, 在 0°C 下处理所得沉淀 15 min, 得到密闭膜微囊制剂。样品用液氮速冻后 -80°C 保存待测。

质膜 H^+ -ATPase 活性测定参照 Michelet 和 Boutry (1995) 的方法, 液泡膜 H^+ -ATPase 活性测定 Syntichaki 等 (2005) 的方法, 内质网膜 H^+ -ATPase 活性测定参照 Ferrol 和 Bennett (1996) 的方法。 Ca^{2+} -ATPase 活性的测定参照 Chung 等 (2000) 的方法。

1.3 离子测定方法

不同部位新鲜黄瓜样品用去离子水洗净后吸水纸吸干水分, 105°C 下杀青 15 min, $70 \sim 80^\circ\text{C}$ 下烘干, 磨碎后过 30 目筛, 精确称取 0.1000 g 样品放入硝酸管中, 加入 5 mL 浓 H_2SO_4 , 放置过夜, 使样品充分被氧化。再逐滴加入 30% H_2O_2 后硝酸炉硝煮, 直至溶液由黑色变为无色清亮透明溶液为止。将溶液转移到 50 mL 容量瓶中, 用双蒸水定容。溶液稀释 20 倍用日立 Z2000 原子吸收分光光度计测定 Ca^{2+} 浓度, 溶液稀释 100 倍测定 K^+ 、 Mg^{2+} 浓度。

试验数据用 SAS 软件进行统计分析 ($P \leq 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗矿质营养离子吸收分布的影响

2.1.1 K^+ 的吸收及分布

如图 1 所示, 根际低氧胁迫降低了黄瓜植株 K^+ 含量。常钙低氧胁迫下黄瓜幼苗植株 K^+ 含量显著低于对照; 与常钙低氧处理相比, 外源增施 CaCl_2 显著提高了黄瓜根系中 K^+ 含量, 但对叶片中 K^+ 含量提高不显著, 茎中 K^+ 含量在胁迫 3 d 时显著高于常钙低氧处理, 而在胁迫 6 d 与常钙低氧处理间差异不显著; 与常钙低氧处理相比, 营养液添加 H^+ 进一步降低了黄瓜植株体内 K^+ 含量, 其中根系处理 6 d 和茎部 K^+ 含量达到显著水平, 但对叶中 K^+ 含量影响不显著。

2.1.2 Ca^{2+} 的吸收及分布

根际低氧胁迫降低了黄瓜植株体内 Ca^{2+} 含量 (图 1)。与对照相比, 常钙低氧处理 Ca^{2+} 含量随胁迫处理时间的延长逐渐降低, 胁迫处理 6 d 黄瓜幼苗根、茎和叶片中 Ca^{2+} 含量均显著低于对照; 增施 CaCl_2 增加了黄瓜幼苗体内 Ca^{2+} 含量, 胁迫处理 3 d 根中 Ca^{2+} 含量显著高于常钙低氧处理, 胁迫处理 6 d 黄瓜幼苗根、茎和叶片中 Ca^{2+} 含量均显著高于常钙低氧处理, 并且茎和下位叶中 Ca^{2+} 含量与对照处

理间差异不显著；低氧胁迫下，营养液添加 H^+ 进一步降低了黄瓜幼苗 Ca^{2+} 含量，胁迫处理期间，黄瓜幼苗根、茎和叶片中 Ca^{2+} 含量均显著低于常钙低氧处理。

2.1.3 Mg^{2+} 的吸收及分布

与对照相比，常钙低氧处理显著降低了根和上位叶中 Mg^{2+} 含量，但对下位叶中 Mg^{2+} 含量影响不显著；与常钙低氧处理相比，营养液添加 $CaCl_2$ 并未显著增加黄瓜幼苗体内 Mg^{2+} 含量，相反，却显著降低了茎中 Mg^{2+} 含量；低氧胁迫下，营养液添加 La^{3+} 未显著降低黄瓜植株各器官中 Mg^{2+} 含量（图1）。

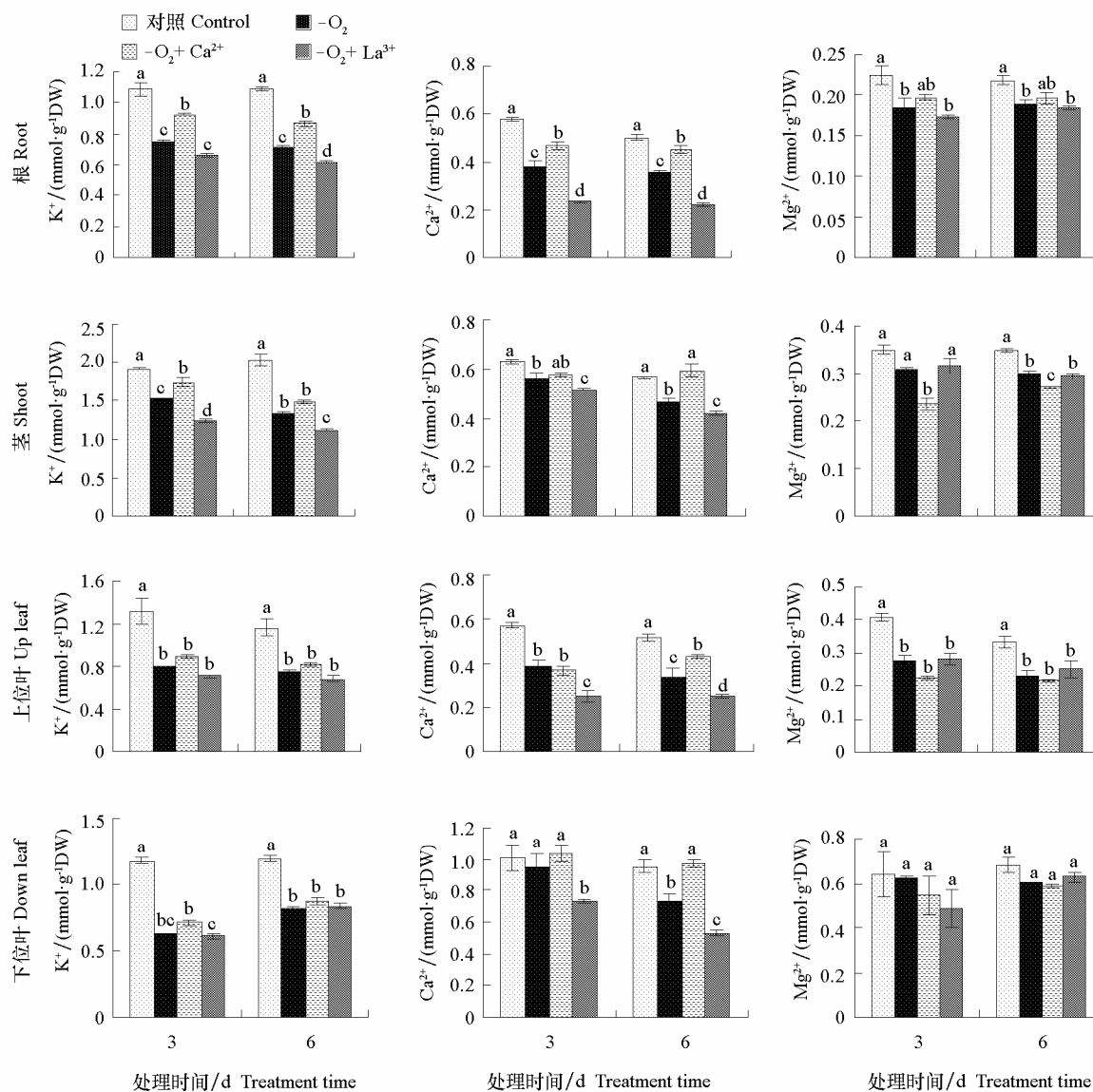


图1 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗不同器官离子含量的影响

Fig. 1 Effects of Ca^{2+} on ion contents in different parts of cucumber seedlings under hypoxic stress

2.2 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗 H^+ -ATPase活性的影响

2.2.1 质膜 H^+ -ATPase的活性

如图2所示，低氧胁迫下黄瓜幼苗质膜 H^+ -ATPase活性显著低于对照。与对照相比，常钙低氧处

理根和叶片中 H^+ -ATPase活性显著低于对照;营养液添加 $CaCl_2$ 提高了黄瓜幼苗质膜 H^+ -ATPase活性,胁迫期间根系和叶片质膜 H^+ -ATPase活性显著高于常钙低氧处理,并且胁迫6 d叶片质膜 H^+ -ATPase活性与对照差异不显著;营养液添加 H^+ 显著降低了黄瓜幼苗根系质膜 H^+ -ATPase活性,而叶中 H^+ -ATPase活性降低差异不显著。

2.2.2 液泡膜 H^+ -ATPase的活性

常钙低氧胁迫下,黄瓜幼苗根和叶片液泡膜 H^+ -ATPase显著低于对照;营养液添加 $CaCl_2$ 显著提高了液泡膜 H^+ -ATPase活性,根中液泡膜 H^+ -ATPase活性与对照差异不显著,胁迫3 d显著高于常钙低氧处理,叶片中液泡膜 H^+ -ATPase活性显著低于对照,但显著高于常钙低氧处理;营养液添加 La^{3+} 未显著降低根中液泡膜 H^+ -ATPase活性,但与常钙低氧处理相比液泡膜 H^+ -ATPase活性差异不显著,却显著降低了叶片液泡膜 H^+ -ATPase活性(图2)。

2.2.3 内质网膜 H^+ -ATPase的活性

低氧胁迫降低了内质网 H^+ -ATPase活性。常钙低氧胁迫下,根和叶片中内质网膜 H^+ -ATPase活性显著低于对照;营养液添加 $CaCl_2$ 显著提高了内质网膜 H^+ -ATPase活性,根和叶片中内质网膜 H^+ -ATPase活性均显著高于常钙低氧处理;营养液添加 La^{3+} 未显著影响内质网膜 H^+ -ATPase活性,与常钙低氧相比内质网膜 H^+ -ATPase活性差异不显著(图2)。

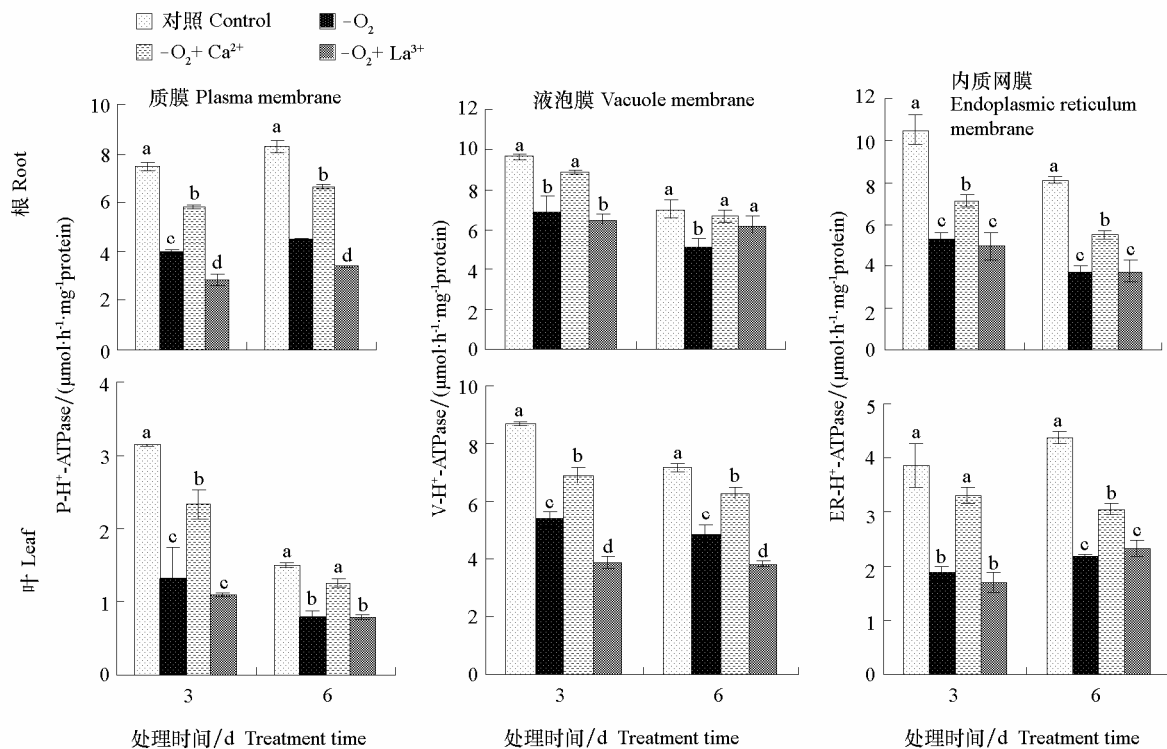


图2 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗根和叶质膜 H^+ -ATPase活性的影响

Fig. 2 Effects of Ca^{2+} on the activity of H^+ -ATPase in root and leaf of cucumber seedlings under hypoxic stress

2.3 液泡膜 H^+ -PPase的活性

如图3所示,与对照相比,常钙低氧胁迫下根系液泡膜 H^+ -PPase活性显著低于对照,叶片中液泡膜 H^+ -PPase活性与对照差异不显著;营养液添加 $CaCl_2$ 显著提高了根系液泡膜 H^+ -PPase活性,处理

期间高钙低氧处理根系液泡膜 H^+ -PPase活性显著高于常钙低氧处理,但营养液添加 $CaCl_2$ 对叶片中液泡膜 H^+ -PPase活性差异不显著;与常钙低氧处理相比,营养液添加 La^{3+} 对根和叶片中液泡膜 H^+ -PPase活性无显著影响。

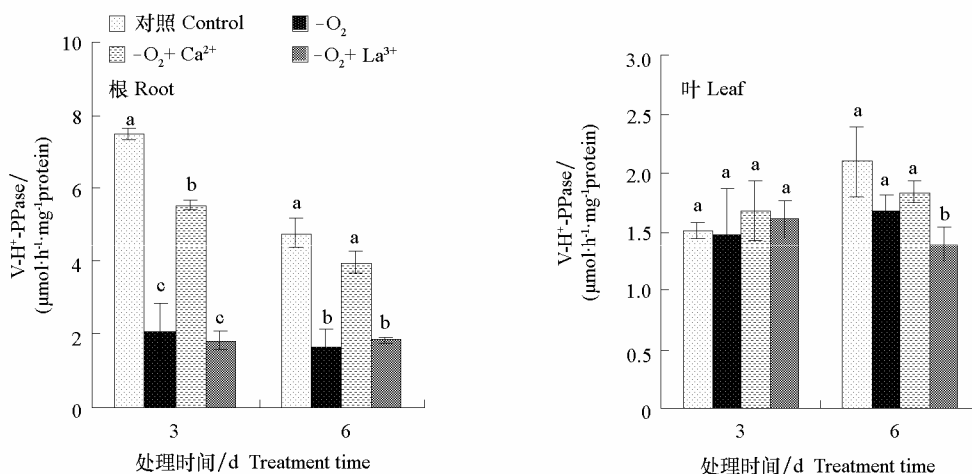


图 3 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗根和叶液泡膜 H^+ -PPase活性的影响

Fig. 3 Effects of Ca^{2+} on the activity of vacuole membrane H^+ -PPase in root and leaf of cucumber seedlings under hypoxic stress

2.4 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗 Ca^{2+} -ATPase活性的影响

2.4.1 质膜 Ca^{2+} -ATPase的活性

如图 4 所示,低氧胁迫导致黄瓜幼苗根和叶 Ca^{2+} -ATPase活性降低。与对照相比,常钙低氧处理 Ca^{2+} -ATPase活性在根和叶中显著低于对照;营养液添加 $CaCl_2$ 提高了根和叶中 Ca^{2+} -ATPase活性,在根中 Ca^{2+} -ATPase活性 3 d 显著高于常钙低氧处理,叶中 Ca^{2+} -ATPase活性高于常钙低氧处理,并与对照差异不显著;低氧胁迫下营养液添加 H^+ 抑制了根和叶中 Ca^{2+} -ATPase活性,在根中 Ca^{2+} -ATPase活性显著低于常钙低氧处理,在叶中 Ca^{2+} -ATPase活性胁迫 3 d 显著低于常钙低氧处理,而在胁迫 6 d 与常钙低氧处理差异不显著。

2.4.2 液泡膜 Ca^{2+} -ATPase的活性

如图 4 所示,根际低氧胁迫导致黄瓜幼苗根和叶片液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性降低。与对照相比,常钙低氧处理根和叶片液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性处理期间均显著降低;营养液添加 $CaCl_2$ 提高了根和叶片液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性,根中液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性显著低于对照,但显著高于常钙低氧处理,叶片中液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性与根系中的变化趋势相同;营养液添加 La^{3+} 抑制了根和叶片液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性,处理期间根和叶片液泡膜 Ca^{2+} -ATPase活性均显著低于常钙低氧处理。

2.4.3 内质网膜 Ca^{2+} -ATPase的活性

如图 4 所示,根际低氧显著影响了黄瓜幼苗内质网膜 Ca^{2+} -ATPase活性。与对照相比,常钙低氧处理根系内质网膜 Ca^{2+} -ATPase活性显著降低,叶片内质网膜 Ca^{2+} -ATPase活性胁迫 3 d 与对照差异不显著,但在胁迫 6 d 显著低于对照;营养液添加 $CaCl_2$ 提高了根和叶片内质网膜 Ca^{2+} -ATPase活性,除在胁迫 3 d 根系内质网膜 Ca^{2+} -ATPase活性显著低于对照外,其它处理与对照间差异不显著;营养液添加 H^+ 对根和叶片内质网膜 Ca^{2+} -ATPase活性影响不大,胁迫期间与常钙低氧处理间差异不显著。

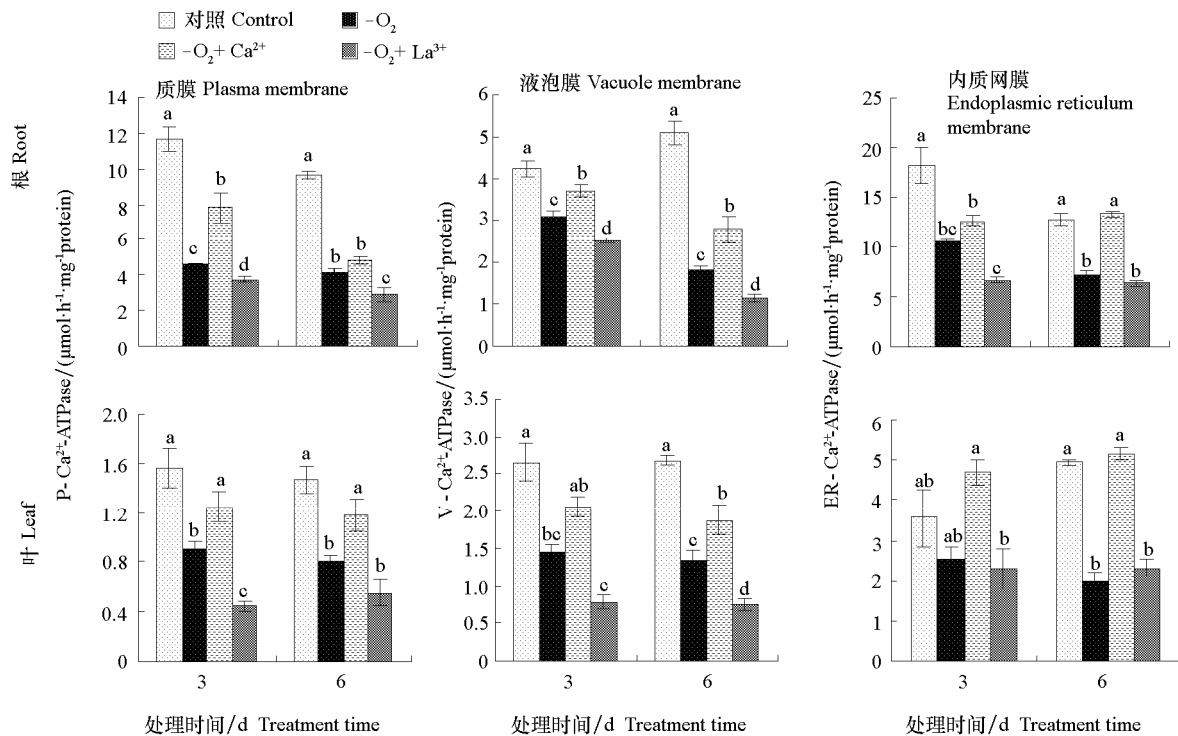


图 4 Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗根和叶 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

Fig. 4 Effects of Ca^{2+} on the activity Ca^{2+} -ATPase in root and leaf of cucumber seedlings under hypoxic stress

3 讨论

根际氧缺乏导致植物根系ATP合成受阻, 矿质营养吸收下降, 植物生长受到抑制 (Steffens et al., 2005)。氧不足导致玉米幼苗植株体内 Ca^{2+} 含量降低, Ca^{2+} 不能从老叶向幼叶运输, 同时影响到N、P、K的吸收, 植物生长发育受到影响 (Atwell & Steer, 1990)。低氧显著影响了葡萄对 K^+ 的吸收, 正常通气条件下根系过渡区的 K^+ 通量为 $30 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 低氧处理 4 h K^+ 通量降为 $5 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 而且此影响因品种而异 (Mancuso & Marras, 2006)。研究表明, 低氧胁迫下, 维持胞质钙浓度和通量有利于玉米根系通气组织的形成 (He et al., 1996), 并且较高的 Ca^{2+} 进入细胞质中, 在导致细胞程序性死亡过程中是必需的一步, 在EGTA、钆红和W7处理中较低的 Ca^{2+} 抑制了细胞的溶解, 这些代谢中间物阻止了通气组织的形成 (Visser & Voesenek, 2005)。说明外源增施 Ca^{2+} 可通过通气组织的形成将茎部氧运输到根部, 有效缓解根际低氧胁迫下植物体的能量危机, 对矿质元素的吸收增加, 增强了植物体的低氧耐性。本试验中, 低氧胁迫下外源增施 CaCl_2 黄瓜幼苗根中 K^+ 、 Ca^{2+} 含量明显上升, 植株对矿质离子吸收增加, 有利于植株生长; 根际低氧胁迫下, 营养液添加 CaCl_2 黄瓜植株茎和叶片 K^+ 、 Ca^{2+} 含量增加, 表明外源增施钙有利于矿质离子在体内的运输; 营养液添加 La^{3+} 显著影响了营养液 Ca^{2+} 向植物体内的运输, 阻碍了根系通气组织的形成, 加重了低氧胁迫对黄瓜幼苗植株造成的伤害。有趣的是, 低氧胁迫下外源添加 Ca^{2+} 并未增加植物体内 Mg^{2+} 的含量, 这可能是由于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 同为二价阳离子, 相互间发生拮抗作用的结果。

H^+ -ATPase在离子和营养物质跨质膜传递中是一个关键酶, 植物质膜 H^+ -ATPase产生跨质膜电子

梯度, 为继发性主动转运和维持细胞膨压提供驱动力 (Camoni et al., 2006), 植物根系对矿质元素和营养物质的吸收与质膜 H^+ -ATPase密切相关。植物对矿质元素的吸收是一种主动吸收, 需要消耗植物体内的ATP, 所以植物体较高的能荷对矿质元素的吸收非常重要。本试验结果表明, 低氧胁迫导致质膜 H^+ -ATPase活性显著降低, K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量显著低于对照, 影响了植株的正常生长, 植株生物量显著降低 (数据未给出)。营养液添加 $CaCl_2$ 缓解了低氧逆境胁迫伤害, 体内通气组织的形成有利于根系有氧呼吸的进行 (He et al., 1996)。液泡膜 H^+ -ATPase、液泡膜 H^+ -PPase和内质网膜 H^+ -ATPase都属于V-ATPase家族, V-ATPases负责真核细胞内细胞小室的酸化 (Forgac, 1998)。液泡膜 H^+ -ATPase在植物细胞生长发育中扮演关键角色, 液泡膜 H^+ -ATPase形成质子电化学梯度, 驱动离子和代谢物的跨膜运输, 并影响植物体的渗透调节, 信号传导和代谢调节过程 (Sze et al., 1992)。液泡膜 H^+ -PPase 是植物体内利用PPi代替ATP作为能源的主要 H^+ 泵, 它的激活需要毫摩尔级 K^+ , 通过跨膜 H^+ 梯度驱动溶质分子进出液泡 (Rea & Poole, 1993)。多种刺激会引起植物胞质 $[Ca^{2+}]$ 的短暂变化, 胞质 $[Ca^{2+}]$ 一般在 $0.3 \mu\text{mol}$, 液泡是主要钙库, 液泡内的 $[Ca^{2+}]$ 可达 $0.1\sim 10 \text{ mmol}$ 。 Ca^{2+} 进入液泡通过 Ca^{2+}/H^+ 反向转运体, 液泡 H^+ -ATPase提供驱动力并维持了胞质pH的动态平衡 (Evans et al., 1991; Sze et al., 1992)。本试验中, 低氧胁迫导致黄瓜幼苗根中液泡膜 H^+ -ATPase、液泡膜 H^+ -PPase和内质网膜 H^+ -ATPase活性显著降低, 叶片液泡膜 H^+ -ATPase和内质网膜 H^+ -ATPase活性也显著降低; 低氧胁迫下营养液增施钙可显著提高黄瓜内膜 H^+ -ATPase和 H^+ -PPase活性, 而营养液添加 H^+ 对黄瓜内膜 H^+ -ATPase和 H^+ -PPase活性无显著影响。表明低氧胁迫下外源增施钙可显著提高黄瓜内膜 H^+ -ATPase和 H^+ -PPase活性, 并提高黄瓜体内离子和代谢产物的跨膜运输和逆境信号的传导, 提高了黄瓜对逆境胁迫的适应能力, 增强了黄瓜植株的低氧耐性。

Ca^{2+} -ATPase是植物细胞 Ca^{2+} 的一个重要调节剂, 能将 Ca^{2+} 由胞内泵到胞外, 维持细胞内外的 Ca^{2+} 梯度 (Ferrol & Bennett, 1996)。 Ca^{2+} -ATPases 出现在植物质膜、内质网、液泡膜、细胞核或高尔基体等中, 在信号传导中发挥关键作用, 调节细胞质和内膜系统中钙离子浓度, 在盐害、冷害和缺氧胁迫下发挥作用 (Kabala & Klobus, 2005)。植物体内较低的胞质自由 Ca^{2+} 浓度对其行使第二信使功能是必需的, 胞质较低 Ca^{2+} 浓度的维持依靠 Ca^{2+} 运输系统, Ca^{2+} -ATPase是植物体具有高亲和力的 Ca^{2+} 运输系统 (Ferrol & Bennett, 1996)。 Ca^{2+} -ATPase和 Ca^{2+}/H^+ 反向转运体共同作用对细胞内钙库排空和再填充进行调节 (Lytton et al., 1991)。在拟南芥中, 质膜 Ca^{2+} -ATPase促进 H^+/Ca^{2+} 交换并促进 Ca^{2+} 的吸收 (Luoni et al., 2000)。本试验中, 根际低氧导致细胞内膜 Ca^{2+} -ATPase活性显著降低, Ca^{2+} 的吸收受到抑制, 影响了黄瓜体内钙信号的形成和逆境信号的体内传递, 减缓了黄瓜对环境条件改变的适应性变化; 营养液增施钙改善了根际低氧逆境, 提高了黄瓜的能荷状态, 维持质膜 Ca^{2+} -ATPase活性, 提高了黄瓜根系对 Ca^{2+} 的吸收, 促进了钙信号的形成和逆境信号的体内传递, 从而提高了黄瓜植株的低氧耐性; 营养液增施钙离子通道抑制剂 H^+ 进一步抑制了质膜 Ca^{2+} -ATPase活性, 严重影响了黄瓜根系对 Ca^{2+} 的吸收, 从而降低了黄瓜植株的低氧耐性。Pfeiffer和Hager (1993) 研究显示, 玉米在体内条件下液泡膜 Ca^{2+} -ATPase 的唯一功能是 Ca^{2+} 转运调节。内质网是植物细胞内的重要钙库 (Evans, 1994), 内质网 Ca^{2+} -ATPase的功能与液泡膜 Ca^{2+} -ATPase功能相同, 也是调节体内游离 Ca^{2+} 浓度 (Evans & Williams, 1998)。本试验中, 根际低氧导致液泡膜和内质网 Ca^{2+} -ATPase活性显著降低, 影响了胞质 Ca^{2+} 浓度和钙信号的形成与传递, 对黄瓜植株产生伤害; 根际低氧胁迫下, 营养液增施钙维持了液泡膜和内质网 Ca^{2+} -ATPase活性, 有利于黄瓜体内钙信号的形成和传递, 提高了黄瓜植株抵御逆境的能力, 增强了黄瓜的低氧耐性; 根际低氧胁迫下, 营养液增施钙离子通道抑制剂 H^+ 并未显著影响液泡膜和内质网 Ca^{2+} -ATPase活性, 暗示钙离子通道抑制剂 H^+ 在调节黄瓜植株亚细胞内钙离子浓度方面效果不显著。

根际低氧是园艺作物生产中常见的非生物胁迫, 本研究结果表明, 根际低氧胁迫导致黄瓜植株

体内矿质养分吸收降低, 质膜和内膜ATPase活性受到抑制; 营养液适当添加 Ca^{2+} 增强了植株对矿质养分的吸收, 维持质膜和内膜ATPase活性, 缓解低氧胁迫伤害, 增强黄瓜低氧耐性; 然而, Ca^{2+} 提高黄瓜低氧耐性的分子机制尚不清楚, 有待今后从分子水平进一步研究。

References

- Allen G J, Chu S P, Harrington C L, Schumacher K, Hoffmann T, Tang Y Y, Grill E, Schroeder J I. 2001. A defined range of guard cell calcium oscillation parameters encodes stomatal movements. *Nature*, 411 (6841): 1053 – 1057.
- Atwell B J, Steer B T. 1990. The effect of oxygen deficiency on uptake and distribution of nutrients in maize plants. *Plant and Soil*, 122 (1): 1 – 8.
- Bailey-Serres J, Voesenek L. 2008. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. *Annual Reviews of Plant Biology*, 59: 313 – 339.
- Camoni L, Marra M, Garuffi A, Visconti S, Aducci P. 2006. The maize root plasma membrane H^{+} -ATPase is regulated by a sugar-induced transduction pathway. *Jpn Soc Plant Physiol*, 47: 743 – 747.
- Chung W, Lee S, Kim J, Do Heo W, Kim M, Park C, Park H, Lim C, Kim W, Harper J. 2000. Identification of a calmodulin-regulated soybean Ca^{2+} -ATPase (SCA1) that is located in the plasma membrane. *The Plant Cell Online*, 12: 1393 – 1408.
- Dennis E, Dolferus R, Ellis M, Rahman M, Wu Y, Hoeren F, Grover A, Ismond K, Good A, Peacock W. 2000. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 51 (342): 89 – 97.
- Evans D. 1994. Calmodulin-stimulated calcium pumping ATPases located at higher plant intracellular membranes: A significant divergence from other eukaryotes? *Physiologia Plantarum*, 90 (2): 420 – 426.
- Evans D, Briars S, Williams L. 1991. Active calcium transport by plant cell membranes. *Journal of Experimental Botany*, 42 (3): 285 – 303.
- Evans D, Williams L. 1998. P-type calcium ATPases in higher plants—biochemical, molecular and functional properties. *BBA-Reviews on Biomembranes*, 1376 (1): 1 – 25.
- Evans N H, McAinsh M R, Hetherington A M, Knight M R. 2005. ROS perception in *Arabidopsis thaliana*: The ozone-induced calcium response. *Plant Journal*, 41 (4): 615.
- Ferrol N, Bennett A. 1996. A single gene may encode differentially localized Ca^{2+} -ATPases in tomato. *The Plant Cell Online*, 8 (7): 1159 – 1169.
- Forgac M. 1998. Structure, function and regulation of the vacuolar H^{+} -ATPases. *FEBS Letters*, 440 (3): 258 – 263.
- Gibbs J, Greenway H. 2003. Mechanisms of anoxia tolerance in plants I Growth, survival and anaerobic catabolism. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 30: 1 – 47.
- He C, Morgan P, Drew M. 1996. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. *Am Soc Plant Biol*, 112: 463 – 472.
- Horchani F, Khayati H, Raymond P, Brouquisse R, Aschi-Smiti S. 2009. Contrasted effects of prolonged root hypoxia on tomato root and fruit (*Solanum lycopersicum*) metabolism. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195: 313 – 318.
- Hu Xiao-hui, Li Jing, Guo Shi-rong, Wang Su-ping, Zhou Guo-xian. 2005. Ca^{2+} effects on the growth of cucumber seedlings and the anaerobic respiration enzymes in the roots under rhizosphere hypoxia stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 25: 1997 – 2002. (in Chinese)
- 胡晓辉, 李 璟, 郭世荣, 王素平, 周国贤. 2005. Ca^{2+} 对低氧胁迫下黄瓜幼苗生长和根系无氧呼吸酶的影响. *西北植物学报*, 25: 1997 – 2002.
- Kabala K, Klobus G. 2005. Plant Ca^{2+} -ATPases. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27 (4): 559 – 574.
- Klaring H, Zude M. 2009. Sensing of tomato plant response to hypoxia in the root environment. *Scientia Horticulturae*, 122: 17 – 25.
- Knight H, Trewavas A J, Knight M R. 1996. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *Am Soc Plant Biol*, 8: 489 – 503.
- Knight H, Trewavas A J, Knight M R. 1997. Calcium signalling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *Plant Journal*, 12 (5): 1067.
- Knight M R, Campbell A K, Smith S M, Trewavas A J. 1991. Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on

- cytoplasmic calcium. *Nature*, 352: 524 – 526.
- Luoni L, Bonza M, de Michelis M. 2000. H^+/Ca^{2+} exchange driven by the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase of *Arabidopsis thaliana* reconstituted in proteoliposomes after calmodulin-affinity purification. *FEBS Letters*, 482 (3): 225 – 230.
- Lytton J, Westlin M, Hanley M. 1991. Thapsigargin inhibits the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase family of calcium pumps. *Journal of Biological Chemistry*, 266 (26): 17067 – 17071.
- Mancuso S, Marras A. 2006. Adaptive response of *Vitis* root to anoxia. *Jpn Soc Plant Physiol*, 47: 401 – 409.
- Michelet B, Boutry M. 1995. The plasma membrane H^+ -ATPase: A highly regulated enzyme with multiple physiological functions. *Plant Physiology*, 108: 1 – 6.
- Pang J Y, Newman I, Mendham N, Zhou M, Shabala S. 2006. Microelectrode ion and O_2 fluxes measurements reveal differential sensitivity of barley root tissues to hypoxia. *Plant, Cell and Environment*, 29 (6): 1107 – 1121.
- Pfeiffer W, Hager A. 1993. A Ca^{2+} -ATPase and a Mg^{2+}/H^+ -antiporter are present on tonoplast membranes from roots of *Zea mays* L. *Planta*, 191 (3): 377 – 385.
- Rea P, Poole R. 1993. Vacuolar H^+ -translocating pyrophosphatase. *Annual Review of Plant Biology*, 44 (1): 157 – 180.
- Roberts J K M, Andrade F H, Anderson I C. 1985. Further evidence that cytoplasmic acidosis is a determinant of flooding intolerance in plants. *Am Soc Plant Biol*, 77: 492 – 494.
- Shacklock P S, Read N D, Trewavas A J. 1992. Cytosolic free calcium mediates red light-induced photomorphogenesis. *Nature*, 358 (6389): 753 – 755.
- Steffens D, Hutsch B W, Eschholz T, Losak T, Schubert S. 2005. Water logging may inhibit plant growth primarily by nutrient deficiency rather than nutrient toxicity. *Plant Soil and Environment*, 51 (12): 545.
- Subbaiah C C, Bush D S, Sachs M M. 1994. Elevation of cytosolic calcium precedes anoxic gene expression in maize suspension-cultured cells. *Am Soc Plant Biol*, 6 (12): 1747 – 1762.
- Syntichaki P, Samara C, Tavernarakis N. 2005. The vacuolar H^+ -ATPase mediates intracellular acidification required for neurodegeneration in *C. elegans*. *Current Biology*, 15: 1249 – 1254.
- Sze H, Ward J, Lai S. 1992. Vacuolar H^+ -translocating ATPases from plants: Structure, function, and isoforms. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 24 (4): 371 – 381.
- Thomson L, Xing T, Hall J, Williams L. 1993. Investigation of the calcium-transporting ATPases at the endoplasmic reticulum and plasma membrane of red beet (*Beta vulgaris*). *Am Soc Plant Biol*, 102: 553 – 564.
- Visser E, Voesenek L. 2005. Acclimation to soil flooding-sensing and signal-transduction. *Plant and Soil*, 274 (1): 197 – 214.

图书推荐

《中国蔬菜品种志》

本书由中国农业科学院蔬菜花卉研究所主编，已于 2002 年 9 月出版发行。全书分上、下卷，1 ~ 6 章为上卷，包括根菜类、白菜类、芥菜类、甘蓝类、绿叶菜类及葱蒜类，计 2 263 个品种，1 347 页；7 ~ 12 章为下卷，包括瓜类、茄果类、豆类、薯芋类、水生蔬菜类和多年生蔬菜类，计 2 550 个品种，1 177 页。入志的品种中，地方品种占 90% 以上，少量在全国栽培时间较长、种植面积较大的一代杂种也选入其中。本书较全面系统而又有重点地反映了中国丰富的蔬菜品种资源概貌、研究成果及育种水平，可供蔬菜科研、教学、生产及种子公司、农业行政单位的人员参考。本书出版后受到读者普遍好评，现尚有少量存书，特以优惠价格 490 元（上、下卷）提供给读者（原价 980 元）。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部，邮编 100081。