

质膜 ATP 酶在茉莉酸诱导豌豆幼苗防御反应形成中的作用

刘 艳*, 陈贵华, 郭金丽

(内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019)

研究质膜 ATP 酶 (H^+ -ATPase) 在茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 诱导豌豆幼苗防御反应形成中的作用, 为逐步完善与防御反应形成相关的茉莉酸信号传递链提供重要依据。

以 10 日龄的宁夏豌豆 (*Pisum sativum* L.) 幼苗为试材, 将幼苗茎基部置于含 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ JA 的磷酸缓冲液中 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.0), 于处理后 0、1、3、5、8、12 h 取样, 用于质膜 H^+ -ATPase 活性测定和蛋白印迹检测。采用药理学方法研究质膜 H^+ -ATPase 与活性氧积累的关系。所用药剂有: 质膜 H^+ -ATPase 抑制剂 Na_3VO_4 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); 激活剂壳梭孢素 ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); 活性氧清除剂 SOD ($100 \text{ units} \cdot \text{mL}^{-1}$)、CAT ($100 \text{ units} \cdot \text{mL}^{-1}$)、活性氧猝灭剂 DMTU ($150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、活性氧供体 (Glu, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + Oxidase, $2.5 \text{ units} \cdot \text{mL}^{-1}$)。药剂预处理 3 h 后, 将材料转移至 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ JA 处理液中, 分别于 JA 处理后 3 h 和 48 h 取样。其中 H^+ -ATPase 激活剂和活性氧供体预处理后的材料不经 JA 处理直接开始计时。每个处理 3 次重复。

试验结果显示, JA 处理后, 质膜 H^+ -ATPase 活性呈明显的先升高后下降的单峰变化曲线。处理后 1 h, 质膜 H^+ -ATPase 活性较对照有明显升高, 处理后 3 h 达到最大值, 随后开始下降, 至处理后 12 h, 酶活性基本恢复至对照水平。利用拟南芥质膜 H^+ -ATPase 多克隆抗体检测到一条分子量为 60 kD 的多肽, 且随着 JA 处理进程的延续, 这条多肽的含量无明显变化, 这与质膜 H^+ -ATPase 活性先升高后下降有所不同, 推测质膜 H^+ -ATPase 的活性可能受到一种翻译后调节。

药理学试验结果显示, 质膜 H^+ -ATPase 活性抑制剂能强有力地抑制 JA 诱导的 H_2O_2 积累和 PAL 活性提高; 质膜 H^+ -ATPase 激活剂单独处理能诱导 H_2O_2 积累和 PAL 活性提高; H_2O_2 清除剂 CAT、SOD、猝灭剂 DMTU 仅能抑制 JA 诱导的 PAL 活性提高, 并不能改变 JA 诱导的质膜 H^+ -ATPase 活性提高。即使外施 H_2O_2 供体, 质膜 H^+ -ATPase 活性也只是较对照略有上升, 远低于 JA 诱导的 H^+ -ATPase 活性提高。

以上结果表明, 质膜 H^+ -ATPase 参与 JA 诱导豌豆幼苗防御反应形成相关的信号传递, 该酶可能作用于活性氧信号上游, 并通过蛋白磷酸化调节来诱导下游防御反应形成。

关键词: 豌豆; 茉莉酸; 质膜 ATP 酶; 防御反应

中图分类号: S 643.3

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2596-01

收稿日期: 2011-07-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30860180)

* E-mail: zgnyl@163.com; Tel: 13019503575