

质膜转运蛋白及其与植物耐盐性关系研究进展^①

¹ 王宝山 ² 邹 琦

¹(山东师范大学逆境植物研究所 济南 250014)

²(山东农业大学生命学院 泰安 271018)

摘要 植物细胞质膜有两种主要功能:(1)溶质运输(进出细胞),溶质运输主要由转运蛋白完成;(2)信号传导,即接收信号并引发细胞生理生化响应。盐分过多对植物的伤害主要是离子毒害。质膜转运蛋白活性对环境变化能做出迅速响应。本文简要叙述了植物细胞质膜转运蛋白类型、分子特性、生理功能及其活性调节。介绍了植物细胞质膜 H^+ -ATPase、质膜氧化还原系统、质膜离子载体和离子通道对盐胁迫的响应及其这些响应与植物耐盐性之间的关系。

关键词 盐胁迫,植物,质膜转运蛋白,耐盐性

Advances in the study on Plasma Membrane-bound Translocating Proteins and Their Relations with Salt Tolerance in Plants

¹WANG Bao-Shan ²ZOU Qi

¹(Institute of Plant Stress, Shandong Teachers' University, Jinan 250014)

²(College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018)

Abstract Plant plasma membrane serves two main functions:(1) the transport of solutes (into and out of each cell), which is mainly carried out by the transporters, and (2) signal transduction, i. e., the sensing and initiation of the cellular physiological and biochemical responses. Plasma membrane transporters show rapid changes in catalytic activity in response to changes in the environment. The types, molecular properties, physiological functions and activity regulations of the plasma membrane-bound translocating proteins in plants are briefly reviewed. The responses of plasma membrane H^+ -ATPase, redox system, ion carriers and ion channels in plants to salt stress and the relations of these responses with salt tolerance in plants are described.

Key words Salt stress, Plants, Plasma membrane-bound translocating proteins, Salt tolerance

细胞膜是植物体最重要的结构之一,从某种意义上讲构成植物体的细胞就是一个膜系统,许多重要的生命过程就是在这些膜系统上进行的,如高等植物的光合作用,呼吸作用等。其次,细胞质膜作为特殊屏障把细胞与外界环境隔离开来,严格而有序地控制着细胞与外界环境之间的物质、能量及信息交换。而细胞器膜又把细胞内进行区域化(compartmentation),使一定的代谢过程只能在一定的区域内进行,并协调着这些区域之间物质

<https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t99-005>

① 国家自然科学基金和山东省自然科学基金资助项目。

收稿日期:1999-01-18 接受日期:1999-04-06 责任编辑:姜联合

与能量交换。

细胞膜主要由膜脂和膜蛋白组成。膜脂主要由磷脂双分子组成,作为膜的基础物质主要起支持作用,当然对膜的物理状态和膜蛋白的活性也有重要作用。但是,膜蛋白质,特别是一些膜转运蛋白(membrane-bound translocating proteins)在接受环境刺激 信号传导及物质吸收运输等方面都起着非常重要的作用。即:外界环境刺激→刺激的接受→传导(包括信息传递及离子和溶质的跨膜运输过程)→代谢调节→响应。外界环境包括各种环境因子。因此,有理由推测膜转运蛋白在植物抗性中起着非常重要的作用。

过去几十年对植物盐害机理的研究表明,盐分过多抑制植物生长的原因主要有两个方面:水分胁迫和离子胁迫(Greenway 等,1980;Munns 等,1986)。土壤中盐分过多导致土壤溶液水势降低,植物吸水困难,蒸腾大于吸水,时间一长造成生理旱害。另外,盐分过多对生长的抑制也可能并不是水分胁迫所致(Hoffman 等,1971;Lauter 等,1987),而是由于细胞中积累过多 Na^+ 、 Cl^- 等离子,从而干扰了正常的代谢造成的(Gorham,1990a;1990b;1990c;Munns 等,1986;Schachtman 等,1992)。Matsushita 等(1991)研究证明,盐生植物(积盐型)及耐盐植物能大量吸收无机离子并积累在液泡中,从而降低细胞渗透势,克服吸水困难,同时避免了过高无机离子对细胞质中代谢过程的干扰。而非盐生植物则不具有这些特性。众所周知,离子的吸收和运输主要靠主动运输来完成。因此,膜转运蛋白,特别是质膜和液泡膜转运蛋白在植物耐盐性方面可能起着关键作用。但是,由于高等植物细胞膜分离纯化技术等方面的困难,这方面的研究工作还不多。关于液泡膜转运蛋白与植物耐盐性关系已有综述(王宝山等,1996)。现就质膜转运蛋白的研究现状及其在盐胁迫下的变化进行评述,以期引起同行们对这一领域更广泛重视,促进植物抗盐生理研究的深入发展。

1 质膜转运蛋白的类型

高等植物细胞质膜上主要有 4 类转运蛋白:(1)泵(Pumps),指直接消耗代谢能量进行溶质跨膜转运的蛋白质,植物膜上的泵仅局限于几个阳离子,如 H^+ (质膜质子 ATPase, 又称质子泵,简写成 $\text{PM H}^+ \text{-ATPase}$), Ca^{2+} -ATPase 和 Na^+ -ATPase 及 Cl^- -ATPase (仅存在于盐生植物和海洋藻类细胞,Lüttge 和 Ratajczak(1997));(2)质膜离子通道(PM ion channels);(3)质膜氧化还原系统(PM redox system)。(4)质膜载体。

2 质膜的分离及纯化

在相分配法之前,都是应用密度梯度离心法纯化膜微囊。但离心法的最大缺点是纯化的膜微囊纯度低。后来,根据各种膜微囊表面电荷密度和疏水性的差异,通过适当的相分配系统,将一种膜微囊从其它成分中分离出来,这便是目前在生物膜研究领域中被广泛应用的双相分配系统(Widdel,1987)。双相分配系统通常由上相 PEG_{4000} 和下相 DextranT_{500} 组成。各种膜微囊(membrane vesicles)在上相中的亲和力顺序:质膜 > 液泡 > 多细胞器复合体 > 类囊体 > 内质网 > 过氧化物体或线粒体 > 完整叶绿体 > 翻转的类囊体。为了从混杂的膜微囊中分离出某一种膜微囊,关键是找到适宜浓度配比的相分配系统,否则会达不到纯化的目的。找到适宜的相分配系统后,经几次分离,就可以得到高度纯化的质膜膜微

囊。

双相分配法的优点有：(1)纯度高；(2)可以将不同类型的膜微囊(inside-out vesicles and right side-out vesicles)分开；(3)活性高。

3 生理功能、分子特性和活性调节

3.1 PM H^+ -ATPase

PM H^+ -ATPase 活性最初是研究 IAA 诱导生长伴随着细胞壁酸化等现象发现的。目前对其生理功能、分子结构和活性调节等都做了大量工作,现简述如下。

3.1.1 生理功能 PM H^+ -ATPase 在高等植物生命活动中享有主宰酶(Master enzyme)的美誉。可见这种酶对植物生命活动有何等重要的意义。可以举一例子说明它的重要性, Serrano 等(1986)得到了 PM H^+ -ATPase 缺陷型真菌突变体,这种真菌的生长几乎停止,许多生理活动不能进行。另一方面,PM H^+ -ATPase 过量表达的突变体对细胞也表现出毒害作用。PM H^+ -ATPase 的生理功能表现在以下几个方面：

1. 维持细胞内,特别是细胞质 pH 相对稳定,以保证生命活动的正常进行。
2. 提供细胞生长所需营养物质和离子运输的驱动力。即由 PM H^+ -ATPase 活动产生跨膜 $\Delta\mu H^+$ 和 $\Delta\Psi$,即跨膜电化学势梯度(ΔP),又称质子驱动力(PMF;proton motive force)。溶质的次生跨膜转运(如载体和离子通道)均依赖于 PMF。
3. 控制细胞的伸长生长。根据酸生长理论(Acid growth theory),PM H^+ -ATPase 把 H^+ 从细胞内泵入细胞壁,使壁 pH 下降,塑性增加,细胞得以生长。
4. 通过改变细胞内 pH 而控制种子萌发。
5. 控制气孔和叶柄运动。
6. 器官的极性生长。

3.1.2 PM H^+ -ATPase 的分子结构和特点 PM H^+ -ATPase 有蛋白激酶和磷酸酶活性部位,故属 E_1E_2 -或 P-ATPase。该酶约有 918 个 Aa 残基组成,为 100 kD 二聚体。Serrano 等(1986)根据现有的研究资料提出了 PM H^+ -ATPase 跨膜结构和功能区模式图。PM H^+ -ATPase 蛋白质分子的多肽链卷曲成 α -螺旋状,再卷曲成 9 个圈。通过外表面非极性残基插在膜磷脂中,一部分 α -螺旋的环组成阳离子通道。有 6 个 α -螺旋暴露在细胞质一侧,具有很强的亲水性,其中 N 端构成 H^+ 入口的门,其余部分分别构成 I 区(磷酸区);II 区:转导区;III、IV、V 和 VI 区构成蛋白激酶暴露在膜外侧的 C 端,构成离子通道出口。PM H^+ -ATPase 的分子结构特点决定其有以下生化特性:a. 受阳离子激活: $K^+ > NH_4^+ > Rb^+ > Na^+ > Cs^+ > Li^+$;b. 受钒酸盐(Vanadate)的专一性抑制,因为该酶属 E_1E_2 型,具有天冬氨酸磷酸化中间体(Asp-Pi 中间体);c. pH 偏酸性,最适 pH 为 6.0~6.5 ;d. 对 Mg^{2+} 是必需的。

3.1.3 PM H^+ -ATPase 活性调节

3.1.3.1 影响 PM H^+ -ATPase 活性的因素 ①光 光诱导的气孔开放受 H^+ -ATPase 活性控制。光激活保卫细胞上 H^+ -ATPase,大量吸收 K^+ ,水势降低,吸水,膨压上升,气孔打开。目前已从植物细胞中分离出三种参与 H^+ -ATPase 活性调节的光受体:红光受体(光敏色素)、蓝光受体和叶绿体色素。②膨压 当植物遭受一定程度干旱和盐渍等环境因子

胁迫时, 膨压下降, 诱导 H^+ -ATPase 活性增加, 从而激活一系列与渗透调节有关的过程。因此, H^+ -ATPase 在高等植物渗透调节过程中起关键作用。③激素 最典型的例子就是 IAA 激活 H^+ -ATPase, 实际上几乎所有的植物激素都参与 H^+ -ATPase 活性调控。已发现 CTK 和油菜素内酯等激活 H^+ -ATPase, 而 ABA 则抑制其活性。④环境因子 如盐胁迫和干旱等都对 H^+ -ATPase 活性产生影响。关于 H^+ -ATPase 活性调节的机理目前尚不清楚。这也是植物生理学研究中的热点问题之一。

3.1.3.2 蛋白激酶的调节作用 PM H^+ -ATPase 实际上由两种酶组成: 蛋白激酶和磷酸化酶。前者催化 ATP 与酶作用, 使酶磷酸化, 产生磷酸化中间体。后者把磷酸化中间体上的无机磷水解下来, 酶恢复原来状态。关于 PM H^+ -ATPase 的激活涉及蛋白激酶的证据有: ATP 为该酶活性所必需的底物; Vanadate 和 Des(双环己基碳化二亚胺)抑制 PM H^+ -ATPase 活性, 而丁香霉素则有促进作用。其次, 如果用去氧胆酸盐将蛋白质激酶溶脱出来, 则丁香霉素的作用消失。

蛋白激酶是真核细胞中最重要、最普遍的一类调节酶。蛋白激酶调控植物体内许多重要的生理生化过程。如钙调蛋白介导的生理生化过程等。目前认为, 激活蛋白激酶的信使主要有 $cAMP$, Ca^{2+} 和磷酸肌醇系统。关于 $cAMP$ 与高等植物 PM H^+ -ATPase 活性之间有何关系研究甚少。而 Ca^{2+} 则显然参与 PM H^+ -ATPase 活性调控(Kinoshita 等, 1995)。Schaller(1988)认为蛋白激酶是依赖 Ca^{2+} 的, 其活性受到细胞中 Ca^{2+} 浓度的影响。当细胞质中游离 Ca^{2+} 达到 $7 \mu mol/L$ 时, PM H^+ -ATPase 的蛋白激酶活性最大, 最适 pH 为 6.2, 当细胞质中无游离 Ca^{2+} 时, 蛋白激酶活性几乎消失。因此, 凡是影响细胞质中游离 Ca^{2+} 的环境因子都会影响 PM H^+ -ATPase 活性, 从而引起一系列生长发育方面的改变。因此, 关于环境胁迫下细胞质中游离 Ca^{2+} 与 PM H^+ -ATPase 调控是值得深入探讨的问题。

3.2 离子通道

离子通道是细胞膜中蛋白质大分子组成的孔道, 这些孔道能被化学或电化学方式激活, 控制着离子的顺势流动。自膜片嵌位技术应用到离子通道研究领域以来, 对通道蛋白的认识已从原来的生物化学概念发展到分子生物学的前沿(Ward, 1997)。所谓膜片嵌位技术(Patch-clamp-technique)就是用一个尖端直径约为 $1 \mu m$ 的玻璃微电极, 用热打光其表面, 探截一小块膜上的离子通道情况。所探截的这一小块膜与微电极一起称一个 "Patch", 一般一个 "Patch" 上只有一个离子通道。可以根据需要制成内向或外向的膜。而且可以改变这一小块膜所处的环境因子, 如离子种类、活度、温度和 pH 等, 从而观察这些因子对离子通道开启情况的效应。离子通道的特性是通过连接的高分辨率放大器发出的电信号来记录的。膜片嵌位技术的试验材料往往是分离的原生质体或细胞器, 这样可以避免细胞间联系及多种细胞器等因子的干扰, 在人工控制的较为单一的环境中测定离子通道特性。通过该技术证明离子通道运输离子的最大周转速率大于 $10^6 \sim 10^7$ 离子 $\cdot s^{-1}$, 而离子载体仅为 $10^4 \sim 10^5$ 离子 $\cdot s^{-1}$ 。

目前, 在质膜上已鉴定的离子通道有 K^+ , Ca^{2+} 和拉伸激活通道(Stretch activated channel)。 K^+ 通道研究的较为详细, 共有两种, 一种是 K^+ 外流通道, 存在于植物的各种细胞中, 当膜电位去极化到 -40 mv 时, K^+ 外流通道被激活, 产生 K^+ 外流。另一种是 K^+ 内流通道, 当膜电位极化到比 -100 mv 更负时, K^+ 内流通道被激活, 产生 K^+ 内流。激活状态

与通道开放时间成正相关。 Al^{3+} 对气孔保卫细胞的内流通道有抑制作用,但不影响 K^{+} 外流通道。实验表明高等植物气孔张开主要受 K^{+} 通道的控制。 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ ABA 延长 K^{+} 通道的开放时间(由 1.25 ms 到 2.05 ms),而 Ca^{2+} 有协效作用。拉伸激活通道起膨压传感器的作用,Schroeder(1994)认为拉伸激活通道与 K^{+} 内流通道联用,可能起到降低渗透压的作用。

3.3 氧化还原系统

众所周知,叶绿体光合膜和线粒体内膜是高等植物氧化还原反应的重要场所。但是,质膜上是否存在氧化还原系统则一直是有争议的问题。Robertson 和 Wilkins(1948)发现植物根对阴离子的吸收伴随着呼吸作用的增加,而这个过程又受到细胞质膜上细胞色素的控制,从而提出阴离子呼吸学说,并认为细胞质膜上可能存在着电子传递系统参与阴离子吸收。后来 Novak 和 Ivankina(1978)观察到外源 NADH 可使伊乐藻(*Elodea*)和苦草(*Vallisneria*)叶片培养基明显酸化。他们认为 H^{+} 的泵出是由于提供了电子,经一系列电子递体至分子氧的结果。Lin 等(1982)用玉米原生质体进一步证实了 Novak 的设想。Moller 等(1986)用质膜微囊直接证明了质膜上存在着氧化还原系统。关于质膜氧化还原系统电子传递活性、组成及生理功能最近已有综述(邱全胜等,1996)。在此仅就有关方面补充说明,并对盐胁迫对质膜氧化还原系统影响的结果做简要介绍。

3.3.1 质膜氧化还原系统的生理功能

3.3.1.1 铁的吸收 双子叶植物和非禾本科单子叶植物吸收 Fe 的先决条件就是首先把土壤中高价铁(Fe^{3+})还原成二价铁(Fe^{2+})。已经证明质膜氧化还原系统将电子传给质膜表面上的 Fe^{3+} 变成 Fe^{2+} ,然后吸收到细胞内。其证据有:Grusak 等(1990)发现缺铁植物根吸收铁的因子是酶还原过程,而不是一般扩散过程。前一过程与温度有关,其温度系数高,而且符合酶动力学模型及受某些因子的调控。而后一过程则不具备以上特点;其次,Bienfait(1985)发现当双子叶植物(菜豆)缺铁时,根表现出三种特征:第一,传递细胞(transfer cells)在表皮组织发育,细胞壁凹陷,质膜表面积增大;第二, H^{+} 外流明显增加;第三,还原铁的能力逐渐增加。这些特征也都表明质膜氧化还原系统参与了铁的还原过程。近年来,人们从番茄分离纯化了 Fe-还原酶,其分子量约为 70 kD ,有 66 、 34 和 27 kD 几条多肽组成,但其详细结构和调控机制则不清楚(Holden, 1992)。

3.3.1.2 O_2 的还原 细胞内 O_2 接受电子后产生 O_2^- 和 H_2O_2 ,继而可以通过 Haber-Weis 反应产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 等自由基,即所谓的活性氧。活性氧是近年来生物和医学等学科研究最活跃的领域之一。近年来发现质膜上氧化还原系统与活性氧的产生有密切关系。

3.3.1.3 O_2^- 产生 在动物中,细胞内的 NADPH 将电子通过质膜氧化还原系统中的 b 型细胞色素传递给细胞外的 O_2 产生 O_2^- ,从而攻击病原菌,是非常重要的防御系统。Doke(1985)证明马铃薯块茎质膜上也具有 NADPH: O_2 还原酶,并且受病原菌浸染时活性突然升高,产生大量 O_2^- ,但其详细机制仍不清楚。植物细胞的天然电子受体可能是细胞内侧的 O_2 ,其产生活性氧的机制与动物类似。

3.3.1.4 H_2O_2 的产生 H_2O_2 是参与细胞壁木质化及结构蛋白聚合的重要反应物质。动物细胞质膜产生 H_2O_2 是防御病原菌浸染的重要二级信号,从而激活一系列保护性反应。由此人们推论,如果植物细胞质膜上也能产生 H_2O_2 ,那么它将使植物对许多不良环

境产生保护性反应。如病原菌浸染,机械伤害等,可以在入侵部位迅速木质化,形成屏障阻止病原菌的扩散等。关于植物质膜产生 H_2O_2 的直接证据不多。然而,我们知道谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase), 抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate peroxidase) 和过氧化氢酶都是利用 H_2O_2 的酶类,而这些酶类与质膜紧密结合在一起 (Askerlund 等, 1987; Moller 等, 1986), 说明植物质膜可能产生 H_2O_2 。

3.3.1.5 H^+ 运输和溶质转运 大量实验表明,植物质膜氧化还原系统与质膜 H^+ -ATPase 有着密切关系,并且参与了质膜的能化过程以及溶质的跨膜转运过程。

Lin 等 (1982) 报道向玉米原生质体保温介质中加入外源 NADH 可增加氧的吸收和膜电势,并增加 H^+ 的外泌量,同时 K^+ 和 Pi 的吸收也增加。说明质膜氧化还原系统与质膜 H^+ 分泌及溶质吸收有密切关系。以后用质膜 H^+ -ATPase 抑制剂 Des 和质膜氧化还原系统电子受体 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 做实验证明:在无 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 时,DES 可以完全抑制 *Asparagus sprengeri* 叶肉细胞引起的酸化,但加入 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 后,可以恢复介质的酸化。因此,电子向 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的传递是与质膜 H^+ -ATPase 相偶联的。Rubinstein 等 (1991) 发现,当加入 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 后,玉米根尖立即引起 Fe^{3+} 的还原,但 H^+ 分泌却有 5 分钟滞后期。他们认为 5 分钟滞后期是由于电子的跨膜传递而在细胞内留下较多的 H^+ ,引起细胞内环境的酸化,从而激活质膜 H^+ -ATPase (最适 pH 6.5)。

总之,到目前为止,认为质膜氧化还原系统与质膜 H^+ -ATPase 有密切关系。由于两者的作用产生跨膜电化学势梯度 ($\Delta P = \Delta \text{pH} + \Delta \psi$),而 ΔP 是溶质跨膜运输的主要驱动力。

3.3.1.6 控制生长 由于质膜氧化还原系统与质膜 H^+ 分泌有密切关系,根据酸生长学说,质膜氧化还原系统与细胞生长也应该是相关的。这一点在动物中已得到证明。但在植物中则尚无统一认识。Crane 等 (1985) 证明胡萝卜细胞的生长被 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 抑制,但 Morre 等 (1988) 证明硝基酚乙酸盐 (人红细胞质膜氧化还原系统抑制剂) 100% 抑制大豆下胚轴质膜微囊的 NADH - $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原酶活性的同时也抑制了生长,说明质膜氧化还原系统控制生长过程。

3.3.1.7 激素作用 质膜氧化还原系统专一性抑制剂 (硝基酚乙酸盐) 仅抑制大豆下胚轴生长的 20% 左右,但抑制 2,4-D 引起的大豆下胚轴生长的 55%。说明 2,4-D 诱导的生长与质膜氧化还原系统有密切关系 (Morre 等, 1988)。其次,2,4-D 和 IAA 等使离体质膜微囊上 NADH 氧化活性增加 2-3 倍,而且促进 NADH 氧化酶的最适浓度与促进生长的最适浓度是相似的。但是,激素对质膜氧化还原系统作用的机制可能是很复杂的。

3.3.1.8 光合作用 与光合作用有关的光及红光和蓝光都与质膜氧化还原系统有关。Rubinstein 等 (1991) 发现光合作用的激活电子通过质膜流向 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 。Widdel 等 (1987) 发现纯化的质膜微囊色素的作用光谱与蓝光形态建成的作用光谱非常相似。因此,这种色素蛋白-细胞色素复合物可能是光受体。但是,光信号如何转变成细胞内的信使,引发一系列反应值得深入研究。Pratt (1989) 发现光敏色素的 (远红光吸收形式) 参与质膜 H^+ 分泌。而质膜氧化还原系统与质膜 H^+ -ATPase 有密切关系。因此,有理由认为红光通过光敏色素来调控质膜氧化还原系统和质膜 H^+ -ATPase,但是,目前对这方面的研究不多。

总之，质膜氧化还原系统的生理功能可能是多方面的，而主要是通过控制 H^+ 分泌和离子通道而起作用。其它作用目前多为推测,有待进一步研究。

3.3.2 质膜氧化还原系统的组成 目前已鉴定的植物细胞质膜氧化还原系统的组分总结于表 1。b 型细胞色素是存在于质膜上的一些蓝光诱导型细胞色素,是电子由还原物质通过黄素向 b 型细胞色素传递时出现的,故称光诱导的吸收值变化(LIAC)。细胞色素 P450 和 P420 均属于 b 型细胞色素,这类色素催化植物组织中许多氧化反应,如酚类和类谷醇等的合成。黄素在质膜上可能是以黄素蛋白的形式存在,是重要的氧化还原组分。其次象泛醌类物质都可能是质膜氧化还原系统的组分,这方面的研究工作正在深入进行。

4 质膜转运蛋白与植物抗盐性关系的研究现状

细胞质膜是细胞与外界环境之间物质和能量交换的第一道屏障。所以,当细胞受到环境胁迫时,质膜必然首先接触到环境因子,因此,也就可能首先作出响应或受到伤害,继而影响细胞内一系列生理生化代谢。作为细胞的重要组成成分及功能行使者—膜转运蛋白也毫无疑问地会对环境胁迫作出响应,而且有可能是最早的响应,以加速或减缓细胞与环境之间的物质和能量交换,使植物体与改变了的环境之间尽快达到相对平衡(如渗透调节等)。因此,近年来人们已开始注意这方面的研究(离子均衡化),但工作还刚刚起步。

表 1 已鉴定的植物细胞质膜氧化还原组分*

组分	来源	浓度(nmol/mg 蛋白质)
细胞色素 b	玉米胚芽鞘	0.12
	燕麦根	0.23
	大麦根	0.35
	菠菜叶	0.42
	甜菜叶	0.29
	大豆下胚轴	0.5
	菜花花序	1.9
	玉米胚芽鞘	0.03
细胞色素 b(LIAC)	菜花花序	0.08
细胞色素 P-450	菜花花序	0.03
细胞色素 P420	菜花花序	0.06
黄素	燕麦根	0.21
	大豆下胚轴	2.4

* 引自邱泽生(1993)并修改。

最早研究盐胁迫对 H^+ -ATPase 影响的是 Kuiper 和 Kuiper(1979)。他们研究了三种生长在不同生态环境下的车前根质膜 H^+ -ATPase 与改变溶液营养水平(low salts and high salts)之间的关系。 *Plantago lanceolata* 为抗旱品种, *Plantago media* 是生长在富含 Ca 的石灰性土壤的耐瘠薄品种,而 *Plantago coronopus* 是生长在海岸的耐盐品种。结果发现:三个品种膜 H^+ -ATPase 最适 pH 均为 6.5, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 对膜 H^+ -ATPase 的激活作用表现为: *P. lanceolata* : $Mg^{2+} > Ca^{2+}$;*P. media* 和 *P. coronopus* : $Ca^{2+} > Mg^{2+}$ 。三个品种膜 H^+ -ATPase 活性均在低盐时最高,把植物从低盐转到高盐环境或反之,膜 H^+ -ATPase 活性变化很

小。1980 年他们用抗盐品种 *P. maritima* 和盐敏感品种 *P. major* ssp *pleiosperma* 进行了类似的工作,结果表明,膜 H^+ -ATPase 有两个 pH 峰,分别为 pH 6.5 和 pH 8.0,而且在高盐条件下, Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 对抗盐品种膜 H^+ -ATPase 表现出双刺激曲线,而敏感品种则表现出单刺激曲线。他们认为 Mg^{2+} 或 Ca^{2+} 对膜 H^+ -ATPase 的双刺激作用可能是由于植物从高盐环境转到低盐环境中引起膜 H^+ -ATPase 构像变化所致。后来证明不同细胞膜 H^+ -ATPase 对离子的敏感性及其最适 pH 都是不同的,如质膜 H^+ -ATPase 最适 pH 6.0 ~ 6.5,而液泡膜 H^+ -ATPase 则为 7.5 ~ 8.0。前者对阳离子特别敏感,而后者对阴离子特别敏感。这些早期研究工作是混杂的膜微囊得出的结果。所以,很难说膜 H^+ -ATPase 特性的改变是何种膜 H^+ -ATPase 发生改变及是否与盐处理有关。

Braun(1986)报道盐胁迫使盐生植物滨藜根质膜 H^+ -ATPase 活性增加 2 倍,pH 曲线发生改变,对照 pH 曲线扁平,而 400 mmol/L NaCl 胁迫后在 pH 6.0 ~ 6.5 处有明显的峰值。动力学分析表明,对照在低 ATP 时有迟滞效应,而 NaCl 胁迫后则消失。以上三点说明了盐胁迫改变了质膜 H^+ -ATPase 的某些特性。

Brüggemann 等(1987;1988;1989)用盐生车前和盐敏感的车前为材料研究了盐胁迫对质膜 H^+ -ATPase 的效应。结果发现盐胁迫并没有改变质膜 H^+ -ATPase 的任何特性。

郝鲁宁和余叔文(1993)研究了大麦根质膜 H^+ -ATPase 对盐胁迫的效应。结果发现短时间盐处理并没有使质膜 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} -ATPase 活性发生改变,幼苗也没有发生任何伤害症状,但酶的动力学则有所改变, Ca^{2+} -ATPase 仍符合 Michaelis-Menten 方式,受 Ca^{2+} 激活。Hill 系数接近 1,对 Ca^{2+} 的亲合常数增加,表明酶对 Ca^{2+} 的亲合力下降,这些结果意味着盐胁迫后 Ca^{2+} 转运系统向外泵出 Ca^{2+} 的过程只有在更高 Ca^{2+} 浓度下才能被激活。而 H^+/Ca^{2+} 反向转运系统在 3 小时内,仍按正协同方式(Hill 系数接近 2),受 Ca^{2+} 激活,而对 Ca^{2+} 的亲合力也与对照相似。在幼苗遭受长期盐胁迫时,外观出现中、轻度伤害症状,两类质膜 H^+ -ATPase 活性均下降, Ca^{2+} -ATPase 对 ATP 的亲合力和 V_m 均下降。他们认为质膜 H^+ -ATPase 的变化可能是因为盐胁迫引起质膜或膜蛋白本身方式变化所致。Yamashita 和 Matsumoto(1997)发现 200 mmol/L NaCl 胁迫 1 d 大麦根质膜 H^+ -ATPase 活性下降 20% 到 30%,质膜总磷脂和胆固醇含量没有明显变化,而质膜 H^+ -ATPase 蛋白质相对含量下降。说明盐胁迫使质膜 H^+ -ATPase 活性下降是由于质膜 H^+ -ATPase 蛋白质含量下降,而不是 H^+ -ATPase 的改变。细胞学研究表明盐适应的豌豆愈伤组织与对照相比,其质膜 H^+ -ATPase 活性没有改变,而酸性磷酸化酶活性明显增加(Olmos 和 Hellin,1997)。看来盐胁迫与高等植物质膜 H^+ -ATPase 之间的关系有待进一步研究。

我们研究了盐胁迫下玉米根尖质膜氧化还原系统活性的变化,结果发现盐胁迫明显抑制质膜氧化还原系统活性,同时根的 H^+ 分泌速率也受到明显抑制(王宝山等,1997)。说明盐胁迫下质膜氧化还原系统活性发生了显著改变,至于其原因及与盐胁迫之间的关系等则需进一步研究。

盐胁迫对质膜载体和离子通道有何影响研究不多。近年来利用分子生物学技术已从高等植物质膜克隆出多种转运载体(Logan 等,1997)。高亲和 K^+ 质膜运输载体(HKT1)已分离出来(Schachtman 等,1994),并证明环境中高浓度 Na^+ 通过与 K^+ 竞争性结合,从而阻断 HKT1 介导的 K^+ 吸收,导致 K^+ 亏缺,引起生长抑制(Ding 和 Zhu,1997;Logan 等,1997)。

但 HKT1 与质膜 H^+ -ATPase 之间的关系及其与植物抗盐性有何关系值得深入研究。

综上所述,盐胁迫下质膜转运蛋白与植物耐盐性的关系研究刚刚开始,尚未取得一致意见。不同研究者因材料不同,分离纯化膜的方法不同,盐处理的方式和程度不同,植物种类和发育阶段不同等得出不同或相反的结果,说明这方面还有大量工作要做。以下几方面可能是这一领域值得深入研究的问题:(1)首先得到高纯度和高活性的质膜微囊,也就是说质膜转运蛋白活性并不因分离纯化过程而发生明显改变,也不因有少量其它膜微囊污染而掩盖了质膜转运蛋白本来的特征,这样才能反映出盐胁迫对质膜转运蛋白所产生的影响,这方面的技术有待突破;(2)要把盐胁迫下植物的伤害、离子吸收和运输以及质膜转运蛋白活性的变化联系起来研究,以便更全面地了解质膜转运蛋白在植物耐盐性方面的作用;(3)盐胁迫下质膜转运蛋白的分子生物学研究是这方面的关键和难点,值得深入研究;(4)盐胁迫下,质膜转运蛋白的调控,特别是离子(Na^+ , K^+ 和 Ca^{2+})、激素和磷酸肌醇系统与质膜转运蛋白活性的关系可能是非常重要的方面。

参 考 文 献

- 王宝山,邹琦,赵可夫,1996. 液泡膜质子泵与植物耐盐关系研究进展. *植物学通报*, **13**(3): 30~36
- 王宝山,赵可夫,邹琦,1997. 作物耐盐机理研究进展及提高作物抗盐性对策. *植物学通报*, **14**: 25~29
- 邱全胜,梁厚果,1996. 植物细胞质膜氧化还原系统电子传递活性、组成及生理功能. *植物学通报*, **13**: 23~29
- 郝鲁宁,余叔文,1993. 大麦根细胞质膜 Ca^{2+} -转运系统对盐胁迫的反应. *植物生理学报*, **19**: 275~284
- Askerlund P, Larsson C, Widell S, Moller I M, 1987. NADH oxidase and peroxidase activities in purified plasmalemma membranes from cauliflower inflorescences. *Physiol Plant*, **71**: 9~19
- Bienfait H F, 1985. Regulated redox processes at the plasmalemma of plant root cells and their function in iron uptake. *J Biomembr*, **17**: 73~79
- Braun Y, Hassidim M, Lerner H R, Reinhold L, 1986. Studies on H^+ -translocating ATPase in Plants of varying resistance to salinity. *Plant Physiol*, **81**: 1250~56
- Brüeggemann W, Janiesch P, 1987. Characterization of plasma membrane H^+ -ATPase from salttolerant and salt-sensitive Plantago species. *J Plant Physiol*, **130**: 395~411
- Brüeggemann W, Janiesch P, 1988. Properties of native and solubilized plasma membrane ATPase from the halophyte Plantago crassifolia grown under saline and non-saline conditions. *Physiol Plant*, **74**: 615~622
- Brüeggemann W, Janiesch P, 1989. Comparison of plasma membrane ATPase from salt-treated and salt-free grown Plantago maritima L. *J Plant Physiol*, **134**: 20~25
- Crane F L, Sun I L, Clark M G, Grebing C, M Coew H, 1985. Transplasma-membrane redox system in growth and development. *Biochem Biophys Acta*, **811**: 233~264
- Ding L, Zhu J K, 1997. Reduced Na^+ uptake in the NaCl-Hypersensitive sos1 mutant of Arabidopsis thaliana. *Plant physiol*, **113**: 795~799
- Doke N, 1985. NADH-dependent O_2 generation in membrane fractions isolated from wounded potato tubers inoculated with phytophthora infestans. *Physiol Plant Path*, **27**: 311~322
- Gorham J, 1990a. Salt tolerance in the Triticeae: ion discrimination in Rye and Triticale. *J Exp Bot*, **41**: 609~624
- Gorham J, 1990b. Salt tolerance in the Triticeae: K/Na discrimination in Aegilops species. *J Exp Bot*, **41**: 615~621
- Gorham J, 1990c. Salt tolerance in the Triticeae: K/Na discrimination in synthetic Hexaploid wheat. *J Exp Bot*, **41**: 623~631
- Greenway H, Munns R, 1980. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann Rev Plant Physiol*, **31**: 149~190
- Grusak M A, Welch R M, Kochian L V, 1990. Does iron deficiency in Pisum sativum enhance the activity of the root plasmalemma iron transport pertein? *Plant Physiol*, **94**: 1353~1357
- Hoffman G J, Rawlins S L, 1971. Growth and water potential of root crops as influenced by salinity and relative humidity. *Agri J*, **63**: 882~936
- Holden M J, Luster D J, Chaney R L, Buckout T J, 1992. Enzymology of ferric chelate reduction at the root plasma membrane. *J Plant Nutr*, **15**: 1667~78 <https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-199-005>
- Kinoshita T, Nishimura M, Shimazaki K I, 1995. Cytosolic concentration of Ca^{2+} regulates the plasma membrane H^+ -ATPase in guard cells of fava bean. *The Plant Cell*, **7**: 1333~1342
- Kuiper D, Kuiper P J C, 1979. Ca and Mg-stimulated ATPases from roots of Plantago maritima lanceolata, Plantago media and Plan-

- tago coronopus: Response to alternations of the level of mineral nutrition and ecological significance. *Physiol Plant*, **45**:240 ~ 244
- Lauter D J, Munns D W, 1987. Salt sensitivity of Chickpea during vegetive growth and at different humidities. *Aust J Plant Physiol*, **14**:171 ~ 180
- Lin W, 1982. Isolation of NADH oxidation system from the plasmalemma of corn root protoplasts. *Plant Physiol*, **70**:326 ~ 332
- Logan H, Bassel M, Very A A, Sentenac H, 1997. Plasma membrane transport systems in higher plants: From black boxes to molecular physiology. *Physiol Plant*, **100**:1 ~ 15
- Lüttge U, Ratajczak R, 1997. The physiology, biochemistry and molecular biology of the plant vacuolar ATPase. In: R A Leigh and D Sanders eds, "Plant Vacuole", Academic Press, pp 252 ~ 196
- Matsushita N, Motoh J, 1991. Characterization of Na exclusion mechanism of salt tolerant reed plants in comparison with salt-sensitive rice plants. *Physiol Plant*, **83**:170 ~ 176
- Moller I M, Berczi A, 1986. Salicylhydroxamic acid-stimulated NADH oxidation by purified plasmalemma vesicles from wheat roots. *Physiol Plant*, **68**:67 ~ 74
- Morre D J, Brightman A D, Wu L Y, Barr R, Leab B, Crane F L, 1988. Role of plasma membrane redox system activities and elongation growth in plants. *Physiol Plant*, **72**:236 ~ 240
- Munns R, Termat A, 1986. Whole-plant responses to salinity. *Aust J Plant Physiol*, **13**:143 ~ 160
- Novak V A, Ivankina N G, 1978. Light-induced absorption by cells of fresh-water plants. *Soviet Plant Physiol*, **25**:315 ~ 321
- Olmos E, Hellin E, 1997. Cytochemical localization of ATPase plasma membrane and acid phosphatase by cerium-based method in a salt-adapted cell line of *Pisum sativum*. *J Exp Bot*, **48**:1529 ~ 1535
- Pratt L H, 1989. Photosynthesis in the science of photobiology. Eds K C. Smith N Y Plenum, pp 233 ~ 304
- Rubinstein B, Stern A I, 1991. The role of plasma membrane redox activity in light effects in plants. *J Bioenerg Biomembr*, **23**:393 ~ 408
- Schaller G E, Sussman M R, 1988. Isolation and sequence of tryptic peptides from the proton-pumping ATPase of the oat plasma membrane. *Planta*, **173**:509 ~ 518
- Schachtman D P, Munns R, 1992. Sodium accumulation in leaves of *Triticum* species that differ in salt tolerance. *Aust J Plant Physiol*, **82**:555 ~ 56
- Schachtman D P, Schroeder J I, 1994. Structure and transport mechanism of high affinity potassium uptake transporter from higher plants. *Nature*, **370**:655 ~ 658
- Schroeder J I, Ward J M, Gassmann W, 1994. Perspectives on the physiology and structure of inward-rectifying K^+ channels in higher plants: Biophysical implications for K^+ uptake. *Ann Rev Biophys Biomol Struct*, **23**:441 ~ 471
- Serrano R, Kielland-Brandt M C, Fink G R, 1986. Yeast plasma membrane ATPase is essential for growth and has homology with $(Na^+ + K^+)$, K^+ and Ca^{2+} -ATPases. *Nature*, **319**:689 ~ 693
- Ward J M, 1997. Patch-clamping and other molecular approaches for the study of plasma membrane transporters demystified. *Plant Physiol*, **114**:1151 ~ 1159
- Widdel S, 1987. Purification of plasmalemma with aqueous polymer two-phase partition. *Physiol Plant*, **69**:727 ~ 730
- Yamashita K, Matsumoto H, 1997. Effect of sodium chloride stress on the plasma membrane ATPase of barley roots: Probable cause for decrease in ATPase activity. *Journal of Plant Nutrition*, **20**:233 ~ 245