

木本植物根系和木质部汁液 ATP 对土壤干旱信息的响应

王华芳 张建华^④ 梁建生^④ 尹伟伦

(北京林业大学, 北京 100083; ④香港浸会大学生物学系, 香港)

摘要 以荧光素酶方法检测到, 抗旱树种侧柏和较不抗旱树种大叶相思根系 ATP 含量分别为 1.6 和 $0.6 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重, 木质部汁液 ATP 浓度分别为 5.6 和 $8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$. 土壤急性干旱时, 侧柏和大叶相思在土壤含水量(SWC)从正常水平($0.25 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土)分别降低到 0.02 和 $0.06 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土时, 植株水势(ψ)分别降低到 -4 和 -3.2 MPa , 根系 ATP 含量分别递减 99.7% 和 42% ; 干旱土壤复水 6 d 后 SWC 和 ψ 迅速回升而根系 ATP 分别恢复 10% 和 23% . 土壤缓慢干旱时, 侧柏和大叶相思 SWC 分别降至 0.1 和 $0.13 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土, ψ 分别降至 -2.5 和 -2 MPa , 根系 ATP 含量分别递减 98% 和 38% ; 干旱土壤复水 8 d , 根系 ATP 分别恢复 30% 和 24% . 木质部汁液 ATP 浓度不受 SWC 和 ψ 直接影响, 但与根系 ATP 含量的坐标对应点沿着其坐标夹角的对角线分布. 这表明根系 ATP 含量对 SWC 的反应较 ψ 敏感, 木质部汁液 ATP 来源于根系, 土壤缓慢干旱有利于根系和木质部汁液保持较高的 ATP 水平.

关键词 侧柏(*Platycladus orientalis*) 大叶相思(*Acacia auriculiformis*) 根系 ATP 木质部汁液 ATP 土壤干旱

植物可以对干旱信息做出各种反应, 如土壤干旱时, 根系会产生大量 ABA 并通过木质部运送到地上器官调控多种生理反应^[1]. 不少实验证据表明, 根源 ABA 是一种根冠之间传递干旱信息的化学信号^[1~3], 这支持了植物抗旱性的关键在根系而不在地上的观点, 说明只要根系还活着, 植株生命就会延续. 如银合欢(*Leucaena leucocephala*), 当土壤干旱时叶子首先脱落, 其后枝条由顶端向基部逐渐干枯, 但根系仍然存活, 只要得到适当水分仍能抽枝展叶. 根系存活的标志是呼吸作用还在进行, 只要有呼吸作用就会产生 ATP. 因此了解植物抗旱存活的关键是了解根系 ATP 水平对土壤干旱的响应.

根系 ATP 水平对环境干旱的响应还处于以大豆^[4]、小麦^[5~7]等作物用化学渗透剂如 PEG₆₀₀₀、甘露醇等进行干旱模拟的实验阶段, 自然土壤条件下的研究尚未见报道. 木本植物的抗旱性研究滞后于作物, 但在有土壤干旱问题的地区, 树木往往是种植在土壤更干旱瘠薄的地方, 其生存的环境比作物更严峻. 因此树木抗旱存活的能力对造林绿化格外重要. 目前树木抗旱性的研究主要集中于地上器官在干旱环境中的形态和水势变化, 而根系抗旱生理的研究还很贫乏.

本文以 ATP 荧光素酶测定技术研究了两种木本植物侧柏(*Platycladus orientalis*) 和大叶相思(*Acacia auriculiformis*) 根系和木质部汁液 ATP 对土壤干旱-复水的响应. 侧柏是我国北方地区抗旱性最强的主要造林树种之一, 大叶相思是华南沿海、香港和台湾地区的绿化树种之一, 相对于侧柏为较不抗旱树种. 本文目的在于探讨: (1) 不同抗旱性树种的根系 ATP 含量究竟对植株水势还是对土壤干旱信息(水信号)有灵敏响应; (2) 木质部汁液究竟有没有 ATP, 其

ATP 从何而来,与土壤干旱信息有何联系. 这将为木本植物根系抗旱生理研究抛砖引玉.

1 材料与方法

(1) 实验材料. 侧柏和大叶相思苗木为播种和栽培在 John Innes 2 号混合基质^[3]中的当年生实生苗.

(2) 土壤和植株的急性和缓慢干旱-复水处理^[3]. 以大($11.5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$)和小($3.4 \times 10^{-3} \text{ m}^3$)两种塑料盆栽植物,浇一次透水后让其自然干旱,小盆土壤干旱较大盆快,分别作为急性和缓慢干旱处理. 干旱处理结束后,植株恢复正常的浇水管理.

(3) 取样. 急性和缓慢干旱处理分别每隔 2 d 和 4 d 取样 1 次,共取样 5~7 次^[3]. 样品包括:土壤、根系和木质部汁液等,均为 2 个重复. 根系以水溶法取出,去离子水冲洗 3 次,吸水纸吸干表面水分,剪取根尖白色部分(约为根尖 5 cm 以内)液氮速冻, -70°C 暂时保存,取样结束时将所有样品冷冻真空干燥,磨碎(比原来碎即可,目的是为了更容易提取 ATP)密封保存. 木质部汁液的采集用压力室方法^[3],土壤为混合取样.

(4) ATP 测定. () 根系 ATP 的提取:用热水浸提法,根据顾增辉和徐本美^[8]的方法修改. 称取根系粉末 50 mg 置于 7 mL 聚乙烯塑料管里,加入热的去离子水 5 mL,蒸气浴 15 min,立即冰浴冷却,冷冻离心($1000 \times g$) 15 min,取其上清液经过 0.45 μm 滤膜过滤后作为 ATP 待测样品,简称提取液. 为认证该提取方法,提取过程用 HPLC^[9]跟踪. ATP 标准样(3 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$)与提取液均在 5 min 19 s 出现峰值(图 1),再将标准样与提取液混合进样时该峰值得到加强,说明 ATP 提取方法是有效的. () ATP 测定. 参考 Leach^[10],王维光^[11]的荧光素酶方法(灵敏度为 $10^{-12} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)进行,荧光素酶液系统为: 3 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 荧光素酶, 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甘氨酸甘氨酸($\text{pH} = 7.6$), 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgSO_4 , 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA. 该试剂由中国科学院上海植物生理研究所提供.

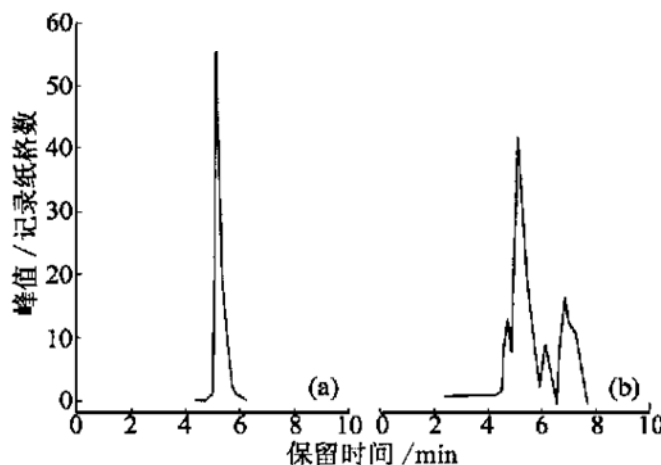


图 1 侧柏和大叶相思根系 ATP 提取液的 HPLC 图谱
(a) 标准 ATP 图谱; (b) 根系提取液图谱

(5) 用称重法^[3]测定土壤含水量(SWC),以压力室方法测定植株水势(ψ).

2 结果

2.1 侧柏和大叶相思根系 ATP 含量对土壤干旱的反应

John Innes 2 号混合基质(土壤)为栽培实验植物的通用土壤,其正常含水量(SWC)为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土. 其土壤干旱时,SWC 和植株水势(ψ)均下降.

正常浇水的侧柏根系和大叶相思根系的 ATP 含量最高,分别达到 1.6 和 $0.6 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重. 土壤干旱时,其 ATP 含量随之递减. 根系 ATP 含量与土壤急性和缓慢干旱持续时间呈负相关(图 2). 其变化过程既有树种之间的差异又有土壤干旱形式之间的区别. 侧柏急性干旱 6 d 根系 ATP 含量迅速递减到 $0.16 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重,其后逐渐趋于平稳,直到第 19 天还保持 $0.004 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重;土壤缓慢干旱时,根系 ATP 含量下降缓慢,直到第 25 天还保持 $0.024 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重,

比土壤急性干旱 19 d 时的水平还高 8 倍(图 2(a)). 大叶相思分别急性和缓慢干旱 11 和 15 d, 根系 ATP 含量分别以相同的趋势($y = a + bx + cx^2$)递减到 0.25 和 0.37 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重(图 2(b)), 土壤缓慢干旱持续时间比急性干旱的长, 但根系 ATP 含量却比急性干旱的还高.

侧柏和大叶相思根系 ATP 含量随 SWC 降低的递减趋势与土壤干旱形式有关(图 3). 在土壤急性干旱条件下, 呈 S 形曲线递减(大叶相思不很明显), 如侧柏在 SWC 下降至 $0.23 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土以上时, 根系 ATP 含量变化不大, SWC 在 $0.23 \sim 0.1 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土之间, 随着 SWC 下降, 根系 ATP 几乎呈直线式递减, 但 SWC 低于 $0.1 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土时, 根系 ATP 变化趋于缓慢. 在土壤缓慢干旱条件下, 则先是指数式后为 S 型曲线递减. SWC 较高时为指数式, 较低时为 S 型曲线递减, 该趋向性转变发生在 SWC $0.15 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土附近, 其结果使植物在 SWC 很小时根系 ATP 递减趋于平稳(几乎为 0). 这种低水平 ATP 的存在表明植物在以微弱的呼吸作用延续其生命, 这可能是植物在干旱土壤中保存生命力的表现.

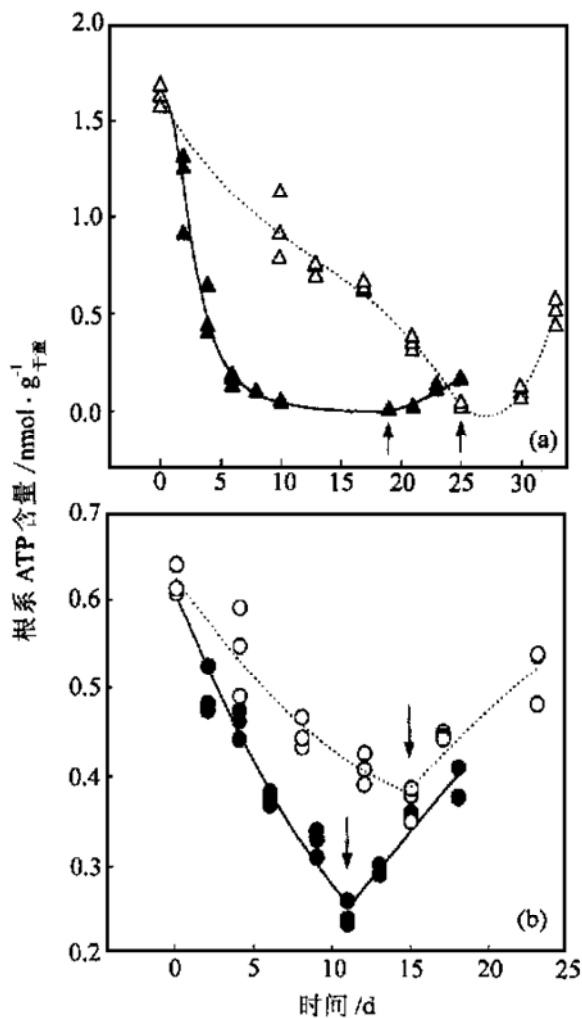


图2 侧柏和大叶相思根系 ATP 含量与土壤急性干旱和缓慢干旱持续时间

(a) 侧柏; (b) 大叶相思. $\blacktriangle$, $\bullet$ 示土壤急性干旱; $\triangle$, $\circ$ 示土壤缓慢干旱; 箭头示开始复水. 数值为每种植物 3 株的平均值

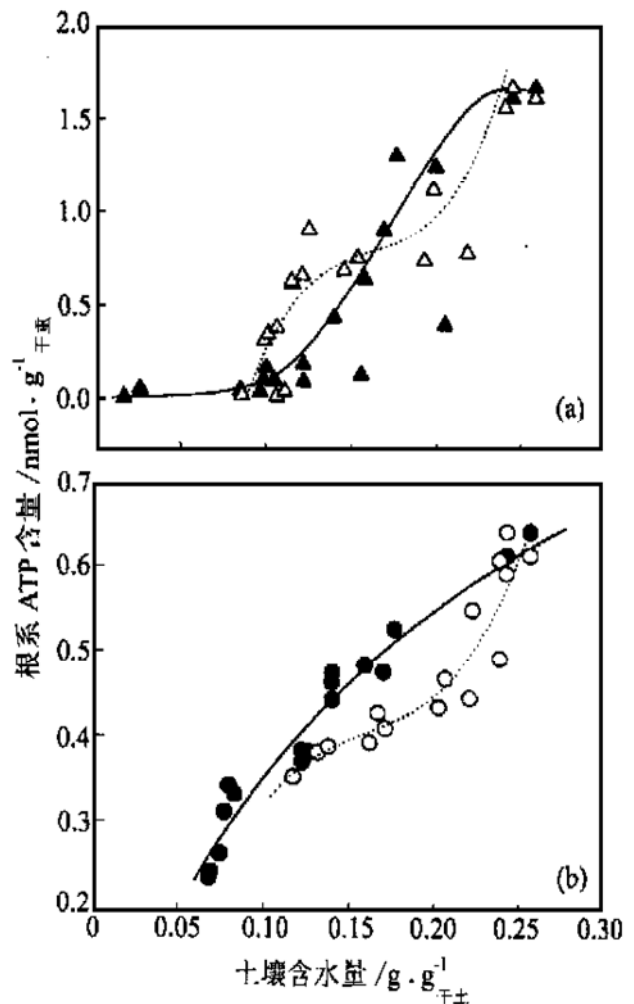


图3 侧柏和大叶相思根系 ATP 含量与 SWC 的关系

图注同图 2

侧柏和大叶相思根系 ATP 含量随植株水势(ψ)下降呈指数式($y = a \exp(bx) + c$)递减. 在

ϕ 较高时 ATP 含量已有明显变化. 但在土壤干旱早期, ϕ 的变化不明显(表 1). SWC 从 0.25 下降至 0.18 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土时, 急性和缓慢干旱的侧柏 ϕ 分别下降 0.14 和 0.33 MPa, 大叶相思分别下降 0.19 和 0.46 MPa. 这表明根系 ATP 含量对 SWC 反应较 ϕ 敏感, 实际上急性和缓慢干旱的植株根系 ATP 含量对 ϕ 作图, 其坐标点相互涵盖而不容易区分. 这表明 ϕ 对根系 ATP 含量没有明显的影响.

表 1 侧柏和大叶相思 SWC 与 ϕ 的关系^{a)}

急性干旱侧柏		缓慢干旱侧柏		急性干旱大叶相思		缓慢干旱大叶相思	
SWC/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土	ϕ/MPa	SWC/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土	ϕ/MPa	SWC/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土	ϕ/MPa	SWC/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土	ϕ/MPa
0.25	- 0.96	0.25	- 0.96	0.25	- 0.46	0.25	- 0.46
0.18	- 1.1	0.18	- 1.29	0.17	- 0.68	0.21	- 0.63
0.07	- 2.31	0.12	- 1.69	0.12	- 1.14	0.17	- 0.99
0.02	- 4.0	0.1	- 2.51	0.06	- 3.2	0.13	- 2.03

a) $\alpha_{\text{SWC}} < 0.09$, $\alpha_{\phi} < 0.3$

2.2 侧柏和大叶相思木质部汁液 ATP 对土壤干旱的响应

侧柏和大叶相思木质部汁液均检测到 ATP, 正常浇水的植株其浓度分别为 5.6 和 8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$, 土壤干旱时其浓度递减. 木质部汁液 ATP 浓度随土壤干旱时间递减的趋势与根系 ATP 含量的变化(图 2)类似. 急性干旱时 ATP 水平迅速降低, 缓慢干旱时变化较慢. 侧柏分别急性干旱和缓慢干旱 19 和 25 d, 木质部汁液的 ATP 浓度分别递减到 2 和 2.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$, 为干旱前的 1/3. 大叶相思分别急性干旱和缓慢干旱 11 和 15 d, 木质部汁液 ATP 分别递减到 0.5 和 1.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$, 仅为干旱前的 1/16 和 2/9. 土壤缓慢干旱过程有利于木质部汁液持续保持较高的 ATP 水平.

侧柏和大叶相思木质部汁液 ATP 浓度与 SWC 正相关, 其变化趋势类似根系的情况. 但是急性和缓慢干旱的植物, ATP 递减的数值无论侧柏还是大叶相思都没有明显差别(表 2). SWC 高于 0.2 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土时, 急性和缓慢干旱的侧柏植株木质部汁液 ATP 浓度几乎没有差别. 这表明土壤干旱形式对木质部汁液 ATP 浓度没有直接影响.

表 2 侧柏和大叶相思木质部汁液 ATP 对 SWC 的反应

SWC/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土	木质部汁液 ATP/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$			
	急性干旱侧柏	缓慢干旱侧柏	急性干旱大叶相思	缓慢干旱大叶相思
0.25	5.6	5.6	8	8
0.20	3.9	4.0	5.1	4.3
0.15	3.4	3.5	3.3	3.0
0.10	2.5	2.4	1.4	1.8

侧柏和大叶相思木质部汁液 ATP 浓度随 ϕ 降低的递减趋势与根系的情况类似, 都是以指数式递减. 但土壤急性和缓慢干旱处理的植株, 在相同的 ϕ 条件下木质部汁液 ATP 浓度没有明显区别, 如 ϕ 为 -2 MPa 时, 急性和缓慢干旱的侧柏木质部 ATP 汁液浓度为 2.75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$, 大叶相思分别为 1.3 和 1.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$. 数据显示, ϕ 对木质部汁液 ATP 没有直接影响.

木质部汁液 ATP 浓度依赖于根系 ATP 含量(图 4), 在木质部汁液 ATP 浓度和根系 ATP 含量的双向坐标图上, 木质部汁液 ATP 浓度与根系 ATP 含量的坐标对应点沿着其坐标的对角线方向分布. 这表明木质部汁液 ATP 主要来源于根系的 ATP.

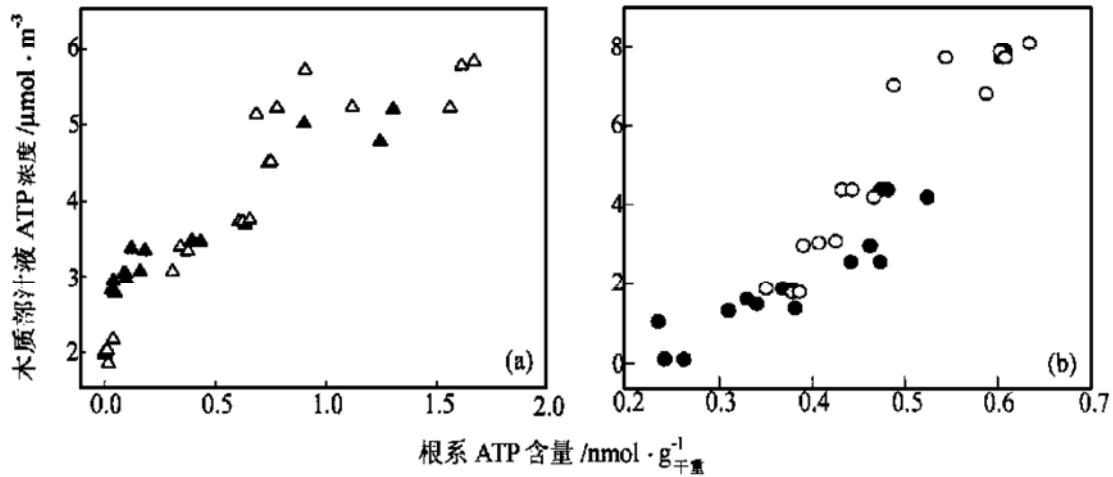


图4 侧柏和大叶相思木质部汁液 ATP 浓度与根系 ATP 含量的关系

图注同图2

2.3 侧柏和大叶相思根系及木质部汁液 ATP 对于干旱土壤复水的反应

如图2所示,急性和缓慢干旱的土壤分别复水6和8 d,SWC和植株水势已经恢复到正常水平,侧柏根系ATP水平分别从正常水平($1.6 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 干重}$)的0.3%和2%恢复到10%和32%,而木质部汁液ATP也从正常水平($5.6 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$)的35%恢复到45%;大叶相思根系ATP含量分别从正常水平($0.6 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 干重}$)的42%和62%恢复到65%和86%,木质部汁液ATP浓度分别从正常水平($8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$)的6%和22%回升到40%。根系和木质部汁液ATP水平的恢复均滞后于SWC和 ψ 。

3 讨论

以上结果表明,侧柏和大叶相思根系ATP含量能在 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 干重}$ 水平上迅速响应土壤干旱信息而对 ψ 较不敏感;木质部汁液中检测到ATP,其浓度为 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ 水平并依赖于根系ATP。

在土壤急性干旱条件下,根系ATP含量随SWC下降呈S形曲线递减趋势,反映了植物根系ATP响应土壤干旱信息的3个基本特点:()SWC从正常水平下降时,在一定范围内根系ATP含量没有明显变化,即植物根系的ATP合成机制对SWC的变化有一定的适应范围;()SWC继续下降时,根系ATP含量随之几乎呈直线式递减;()SWC降低到一定限度后根系ATP不再随之迅速下降而是趋于平稳。如SWC下降到 $0.02 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 干土}$ 时,侧柏根系ATP含量还保持 $0.004 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 干重}$ 。该变化过程暗示植物根系ATP对土壤干旱信息的响应机制是其自我保持稳态平衡的机制。在SWC较高时,植物建立起来的适应这种SWC的根系ATP合成的稳态平衡机制将被SWC持续下降而破坏,但在SWC相当低时,植物能建立起适应干旱土壤保存生命的根系ATP合成的稳态平衡体系,以维持最低限度的根系呼吸速率渡过土壤严重干旱的胁迫。在干旱土壤复水之后,SWC和 ψ 早已恢复正常,但根系ATP水平恢复最快(大叶相思)也只能到原来的65%,这又表明根系适应土壤干旱的ATP合成的自我稳态平衡机制不是无阻空间机制而是复杂的生理生化系统,改变或调整该系统需要一个变化过程。一些渗透剂处理植物的模拟实验有助于了解根系ATP响应土壤干旱信息的这种机制。PEG₆₀₀₀处理的大豆下胚轴,呼吸作用的电子传递链的细胞色素氧化酶活性下降,抗脞呼吸途径加强但呼吸熵不变^[5];玉米实生苗的质膜ATP酶活性提高,并且当磷脂与蛋白质的比例为1.05时,活性最

高^[12],高粱根系分离的质膜泡囊所做的实验表明,质膜ATP酶对ATP亲和力高和对K⁺运输速率低与H⁺的运输无关.该酶的活性受亚胺环己酮和钒酸盐抑制^[6],表明该酶是在渗透胁迫下从头合成的P类ATP酶.这意味着渗透胁迫改变了质膜组成也激活了与质膜ATP酶合成有关的基因表达.植物根系ATP含量、质膜ATP酶与土壤干旱信息(水信号)的传递不无关系.

在土壤缓慢干旱条件下,根系ATP含量随SWC下降的递减包括两种趋势,在出现S形曲线变化之前还有一段指数式变化.其生理生化机制还有待探讨.但S形曲线递减的起始SWC被推移到0.15 g·g⁻¹干土左右.这意味着根系ATP响应土壤干旱信息的第3个特征被推移到更低的SWC水平.本次实验中,侧柏缓慢干旱25 d尚未出现土壤急性土旱那样的根系ATP平稳变化过程.土壤缓慢干旱相当于植物得到抗旱锻炼机会增强了其抗旱能力.

木质部汁液中的ATP不受 ϕ 直接影响,与根系ATP组成的坐标对应点沿着其坐标夹角的对角线方向分布,这排除了木质部汁液中的ATP有可能来自取样时的细胞或韧皮部汁液污染或来自地上器官的可能性,证明它们是来自根源ATP但其去向或作用如何尚需进一步研究.

比较两个抗旱性不同的树种根系和木质部汁液的ATP水平,侧柏根系ATP含量是大叶相思的2.7倍,而木质部汁液ATP仅为大叶相思的0.7倍.侧柏是抗旱性最强的树种之一,ATP水平的数据表明其抗旱性与根系ATP水平正相关.这为植物抗旱性的关键在根系而不在地上提供了直接的证据.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号:39470575)和香港RGC(Research Grant Committee)资助项目.本课题为林业部重点课题.

参 考 文 献

- 1 Davis W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42: 55~ 76
- 2 Jackson G E, Irvine J, Grace J, et al. Absciscic acid concentration and fluxes in drought conifer samplings. *Plant Cell Environ*, 1995, 18: 13~ 32
- 3 Lang J, Zhang J, Wong M H. How do roots control xylem sap ABA concentration in response to soil drying? *Plant Cell Physiol*, 1997, 38(1): 10~ 16
- 4 Yang G P, Jing J H. The effects of osmotic stress and respiration inhibitors on cell permeability in soyabean hypocotyls. *Acta Agriculturae Boreali Sinica*, 1993, 8(2): 50~ 53
- 5 Yang G P, Wang S T. Effects of osmotic stress on the respiration of wheat roots. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1989, 15(2): 179~ 183
- 6 Yi Y, Tang Z C. K⁺-ATPase and its transport characterization of plasma membrane vesicles from sorghum roots after osmotic stress. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1996, 22(3): 231~ 236
- 7 Zhu Z H, Hu R H, Chang X P. Response of root system of winter wheat seedlings with different drought resistance to water stress. *Plant Physiology Communication*, 1996, 32(6): 410~ 413
- 8 顾增辉,徐本美.种子吸胀及萌发阶段ATP水平测定方法的探讨. *植物生理学通讯*, 1983, (5): 50~ 60
- 9 杨伟华,邱 竟.高效液相色谱法测定棉子中的ATP,ADP,AMP. *色谱*, 1990, 2: 126
- 10 Leach K R. ATP determination with firefly luciferase. *Journal of Applied Biochemistry*, 1981, 3: 473~ 517
- 11 王维光.虫荧光素酶系统的制备及性质. *植物生理学通讯*, 1982, 4: 38~ 41
- 12 Hu Z L, Li L, Jin J H, et al. The stimulative effect of water stress the plasma membrane ATPase activity in the growing zone of maize leaves. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1993, 19(2): 124~ 130

(1998-08-19收稿,1998-12-08收修改稿)