木本植物根系及木质部汁液 ABA 对土壤干旱信息的感应

王华芳 张建华^{④*} 梁建生^④ 尹伟伦

(北京林业大学生物学院, 北京 100083; ④香港浸会大学生物学系, 香港. * 联系人)

摘要 用 ABA 单克隆放射性免疫测定技术(RIA)研究了抗旱树种侧柏(*Platycladus orientalis*)和较不抗旱树种大叶相思(*Acacia auriculiformis*)根系和木质部汁液 ABA 对土壤快速和缓慢干旱的反应. 结果表明, 侧柏和大叶相思根系 ABA 对土壤干旱反应灵敏, 两者对土壤干旱信息的感应有差别并与干旱形式有关; 土壤快速和缓慢干旱时, 侧柏木质部汁液 ABA 浓度随根系 ABA 递增的趋势有明显差别, 而大叶相思均以指数式递增且变化趋势无明显区别. 根系和木质部汁液 ABA 对土壤干旱的反应较叶片中灵敏, 可能是根冠传递土壤干旱信息的化学信号.

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

土壤干旱使植物水分亏缺、气孔关闭、生长受抑制、产量下降甚至颗粒无收. 但有实验证据表明, 土壤干旱时根系可产生信号抑制植株蒸腾使生长不受水分的影响^[1~6]. 最近对这种信号本质的研究非常活跃. 根系产生的 ABA 可能是一种传递土壤干旱信息的化学信号^[5,6]. 土壤干旱时, 根系产生大量 ABA 并通过木质部传送到地上部分的作用部位, 调控蒸腾、光合、生长等多种生理过程^[5]. 根系 ABA 对土壤干旱信息的快速反应及其在根冠系统中的快速传递已是干旱信号传递的基本的最有趣的问题^[7].

木本植物抗旱性研究主要集中于叶片结构和植株水势对环境干旱的反应^[8], 干旱信息传递的研究已有零星报道^[6]. 如两个杨树栽培种, 土壤失水的根系和晾晒的离体叶片 ABA 水平不同^[9]. 本文以研究作物根冠通讯的基础和条件, 用 ABA 单克隆放射免疫测定技术(RIA)研究抗旱树种侧柏和较不抗旱树种大叶相思根系和木质部汁液 ABA 对土壤干旱信息的感应和传递, 目的是以较科学的手段了解不同抗旱性树种和木质部汁液 ABA 对土壤干旱信息的基本反应, 探讨 ABA 在根系和木质部汁液中的变化可否作为木本植物根冠传递干旱信息的化学信号.

1 材料与方法

(1) 植物材料. 侧柏(*Platycladus orientalis*)和大叶相思(*Acacia auriculiformis*)种子播于 John Innes 2 号混合基质中, 按田间条件管理, 苗木生长 4 个月, 侧柏苗高 ≥ 16 cm, 大叶相思苗高 ≥ 30 cm, 选择大小一致的实生苗作为实验材料.

(2) 土壤和植株的快速和缓慢干旱_复水处理. 侧柏和大叶相思均移栽到大小不同的两种塑料盆里, 其体积分别为 11.5×10^{-3} 和 $4.3 \times 10^{-3} \text{ m}^3$. 土壤均为 John Innes 2 号混合基质. 所有盆钵均浇一次透水, 侧柏和大叶相思的大盆和小盆植株均分为 2 组, 一组为对照, 始终给

1) Liang J. Xylem-carried abscisic acid (ABA) in plant responses to soil_drying. Ph D Thesis, Hong Kong Baptist University, 1997

予正常浇水;另一组为处理,从此不再浇水.由于小盆土壤失水比大盆快,前者为快速干旱而后者为缓慢干旱处理.土壤干旱处理结束时,小盆和大盆土壤分别平均每天浇水 80 和 270 mL. 苗木在温室里养护(24~26℃),辐照度以一组高压钠灯补光,光强度达到 $400 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照节律为 16 h 光照/8 h 暗期.

(3) 取样. 快速和缓慢干旱的植株及对照组分别每隔 2 和 4 d 取样 1 次,直到侧柏针叶边缘卷曲,大叶相思叶片下垂,共取样 5~7 次. 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/浅黄色部分(均为根尖 5 cm 以内),液氮速冻, -70℃ 下暂时保存,取样结束时将所有样品冷冻真空干燥磨碎,密封保存. 木质部汁液用压力室法采集¹⁾. 土壤为混合取样.

(4) ABA 测定. () 根系 ABA 的提取. 称取 50 mg 根系粉末,置于体积为 7 mL 塑料管里,加入 5 mL 去离子水,4℃ 下避光振荡 24 h,取上清液(简称粗提液)作为 ABA 待测样品.

() 木质部汁液非特异性干扰反应检测(spiking test experiment). 木质部汁液没有污染,但其 ABA 测定中的非特异性干扰必须检测和限制. 玉米、向日葵等已做了检测和判别,侧柏和大叶相思尚未报道. 因此在对实验数据进行合理解释之前必须进行样品的非特异性干扰反应检测. 将收集到的干旱和对照处理的侧柏或大叶相思木质部汁液混合,稀释成 1, 1/2, 1/4, 1/8 和 1/16 梯度浓度. 参考玉米木质部汁液的测定方法^[10],将 50 μL 梯度木质部汁液加入 ABA 测定体系中,分别加入 50 μL 浓度为 0, 500, 1 000, 1 500 和 2 000 pg/50 μL 的 ABA 标准液,测定该体系的 ABA 并与加入的 ABA 进行回归分析. 结果表明(图 1),回归曲线几乎与对照平行,图 1 为侧柏的结果,大叶相思的结果与之类似. 因此确认,本次实验采集的样品几乎不存在免疫污染.

() 根系和木质部汁液样品的 ABA 测定. 根系和木质部汁液样品用单克隆放射免疫技术(RIA)^[11]测定. 将 50 μL 样品加入测定体系中,4℃ 下反应 45 min,以 50% 饱和硫酸铵沉淀束缚态 [^3H]-ABA,以 Beckman Ls6500 液体闪烁计数器测定其放射性活性. 样品测定体系为: 250 μL 磷酸盐缓冲液(PBS, pH=6.0), 100 μL 稀释的单克隆抗体, 100 μL [^3H]-ABA (约 20 000/min⁻¹或 330 Bq). 其检测灵敏度大于 0.4 pmol/反应管,与 Quarrie 等人^[11]的报道一致. ABA 的单克隆抗体由 Quarrie 博士提供(John Innes Centre, UK). [^3H]-ABA 从 Amersham 购买.

2 结果

2.1 侧柏和大叶相思根系 ABA 对土壤干旱信息的感应

正常浇水的 John Innes 2 号混合基质,其土壤含水量(SWC)为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$;侧柏和大叶相

图1 侧柏和大叶相思木质部汁液 ABA 免疫测定的免疫污染

● 示对照: 木质部汁液浓度为原液(■)、1/2(▲)、1/4(▼)、1/8(◆)和 1/16(■)

1) 同 2053 页脚注 1)

侧柏根系 ABA 含量分别为 0.3 和 $2.5 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$. 土壤干旱时, SWC 和植株水势(ψ) 下降, 根系 ABA 含量却迅速增加($P < 0.01$).

根系 ABA 含量的变化与土壤干旱持续时间正相关(图 2), 与 SWC 负相关(图 3). 栽培侧柏和大叶相思的土壤分别快速干旱 19 和 11 d, 其根系 ABA 含量分别以对数式和指数式递增 22 和 2 倍; 土壤分别缓慢干旱 25 和 15 d, 根系 ABA 分别以指数式递增 5 和 1.6 倍, 其中土壤缓慢干旱开始的 10 d 里, 侧柏的根系 ABA 含量仅增加 17%, 而大叶相思已增加 33%. 快速干旱的 SWC 分别从 $0.25 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 递减至 0.02 和 $0.07 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$, 侧柏和大叶相思根系 ABA 几乎呈线性递增至 6.5 和 $4.7 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$. 在 SWC 较高值时, ABA 含量已有明显变化. 缓慢干旱的 SWC 分别降至 0.1 和 $0.13 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 时, 根系 ABA 分别以指数式递增至 1.6 和 $3.9 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$, 其中侧柏在 SWC 高于 $0.13 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 时, 根系 ABA 增加不明显, 但 SWC 低于该值时则迅速增加.

图 2 侧柏和大叶相思根系 ABA 含量与土壤急性干旱和缓慢干旱持续时间的关系

(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; $\uparrow$ 表示干旱土壤开始复水, 数值为 3 株植物的平均值

图 3 侧柏和大叶相思根系 ABA 含量与土壤快速干旱和缓慢干旱的土壤含水量(SWC)的关系

图注同图 2

侧柏和大叶相思根系 ABA 含量随 ψ 下降呈饱和曲线式递增, ψ 还在较高值时根系 ABA 已有明显变化. 在表 1 里, 当 $\Delta\psi$ 变化 -0.1 MPa 时, 快速干旱的侧柏和大叶相思根系 ABA 含

量分别增加 1 和 $0.2 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$, 缓慢干旱的侧柏和大叶相思根系 ABA 含量分别增加 0.07 和 $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$. 当 $\Delta\psi$ 变化 -1 MPa 时, 根系 ABA 递增较慢.

表1 侧柏和大叶相思根系 ABA 和木质部汁液 ABA 与植株水势变化 ($\Delta\psi$) 的关系^{a)}

$\Delta\psi/\text{MPa}$	快速干旱侧柏		缓慢干旱侧柏		快速干旱大叶相思		缓慢干旱大叶相思	
	根系 $/\text{nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$	木质部 汁液/ μmol	根系 $/\text{nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$	木质部 汁液/ μmol	根系 $/\text{nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$	木质部 汁液/ μmol	根系 $/\text{nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$	木质部 汁液/ μmol
0	0.3	1.6	0.3	1.6	2.5	0.04	2.5	0.04
-0.1	1.3	3.0	0.37	1.7	2.7	0.09	2.6	0.08
-1.0	4.6	4.9	0.82	6.9	3.9	0.92	3.5	0.63

a) $\sigma \leq 17\%$

2.2 侧柏和大叶相思木质部汁液 ABA 浓度对土壤干旱的感应

正常浇水的侧柏和大叶相思, 其木质部汁液 ABA 浓度分别为 1.6 和 $0.04 \mu\text{mol}$. 侧柏和大叶相思木质部汁液 ABA 浓度与根系 ABA 含量正相关(图4). 快速和缓慢干旱的侧柏, 木质部汁液 ABA 浓度随根系 ABA 递增的趋势有明显差别. 快速干旱的侧柏根系 ABA 含量增至 $3 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 以前, 木质部汁液 ABA 随之呈对数式递增, 其后则随之呈指数式递增. 缓慢干旱的侧柏木质部汁液 ABA 浓度随根系 ABA 含量增加呈对数式迅速递增. 在根系 ABA 增至 $2 \text{ nmol} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 时木质部汁液已增至 $9 \mu\text{mol}$ 左右. 快速和缓慢干旱的大叶相思木质部汁液 ABA 随根系 ABA 的增加均以指数式递增且其变化趋势没有明显区别.

图4 土壤快速干旱和缓慢干旱时侧柏和大叶相思木质部汁液 ABA 浓度与根系 ABA 含量的关系

图注同图2

2.3 侧柏和大叶相思根系和木质部汁液 ABA 浓度对干旱土壤复水的反应

干旱土壤恢复正常浇水, SWC 回升, 根系木质部汁液 ABA 水平下降(图2). 快速和缓慢干旱土壤分别复水 6 和 8 d, 侧柏根系 ABA 含量分别从高于对照水平 22 和 5 倍, 木质部汁液 ABA 浓度从高于对照 7 和 5 倍递减近对照水平; 大叶相思根系 ABA 含量分别从高于对照 2 和 1.6 倍, 木质部汁液 ABA 浓度分别从高于对照 34 和 19 倍递减近对照水平.

2 讨论

侧柏和大叶相思根系 ABA 对土壤干旱反应灵敏. 土壤快速干旱 2 d, 侧柏和大叶相思根系 ABA 含量已明显增加(图2), 并与 SWC 几乎呈线性负相关(图3). 已干旱的土壤复水之后,

ABA 含量迅速减少(图 2). 根系 ABA 对土壤干旱的这种感应与主要农作物的情况基本一致^[1~5], 符合信息传递迅捷保真的基本特点, 可能是侧柏和大叶相思感应和传递土壤干旱信息的化学信号.

侧柏和大叶相思根系 ABA 对土壤干旱信息的感应有差别并与土壤干旱形式有关. 缓慢干旱的侧柏和大叶相思 ABA 含量随土壤干旱持续时间的递增较快速干旱时缓慢, 但随 SWC 减少, 快速和缓慢干旱的侧柏和大叶相思根系 ABA 递增趋势有所不同. SWC 高于 $0.13 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 时, 缓慢干旱的侧柏根系 ABA 含量增加较缓慢, 低于 $0.13 \text{ g} \cdot \text{g}_{\text{干重}}^{-1}$ 时增加较快; 快速和缓慢干旱的大叶相思根系 ABA 随 SWC 减少的递增趋势没有显著差别(图 3). 这表明土壤缓慢干旱对根系 ABA 合成的影响可能有两方面: 一是干旱信号弱引起根系 ABA 的增加较缓慢; 二是改变根系 ABA 合成对干旱信息的敏感性, 在 SWC 下降的一定范围内, 干旱信号不足以引起根系含量显著增加. 无论哪种情况, 缓慢干旱都使根系 ABA 含量增加较缓慢.

木质部汁液 ABA 可能来自根系和叶片^[12](主要是老叶). 快速和缓慢干旱的侧柏木质部汁液 ABA 浓度随根系 ABA 含量的变化趋势相差甚远. 在快速干旱的初期和缓慢干旱情况下为对数式递增, 此时木质部汁液 ABA 可能主要来自根系; 快速干旱的土壤失水加剧, 木质部汁液 ABA 为指数式递增, 在根系 ABA 含量较高时, 其微小的变化都对应着木质部汁液 ABA 较大的增量(图 4), 此时木质部汁液 ABA 可能来自根系和叶片. 土壤干旱较严重时, 叶片对木质部汁液 ABA 的贡献更大. 快速和缓慢干旱的大叶相思木质部汁液 ABA 浓度均随根系 ABA 含量的增加呈指数式递增, 叶片可能在土壤干旱较不严重时, 已对木质部汁液 ABA 有较大贡献. 不论那种情况均表明木质部汁液 ABA 对土壤干旱有感应, 可能是侧柏和大叶相思感应和传递土壤干旱信息的化学信号.

侧柏和大叶相思根系和木质部汁液 ABA 对土壤干旱信息的反应较植株水势(ψ)敏感. 根系和木质部汁液 ABA 随 ψ 下降呈饱和曲线递增, 在 ψ 较高值时 ABA 已有明显变化, 与上述 ABA 对 SWC 的反应相比, ψ 对 SWC 的变化不太灵敏. 这一结论与早先研究草本植物的结果一致^[10, 12].

根系 ABA 合成如何感应土壤干旱信息还不清楚. ABA 在根细胞内的合成受来自土壤干旱信息的启动, 但植物细胞是高度区隔化的复杂结构, 土壤干旱信息如何传导进去也还不清楚. Johansson^[13]关于水导蛋白的研究表明, 干旱信息有可能首先作用在细胞膜上, 即首先传递到与土壤紧密结合的根系表面的细胞质膜上, 再传递到细胞内部进行信息的化学放大和传递. 细胞膜如何感应和传递干旱信息, 是否与细胞膜的质子磷酸化有关仍然值得研究.

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.

参 考 文 献

- 1 Bates L M, Hall A E. Stomatal closure with soil water depletion not associated with change in bulk leaf water stress. *Oecologia*, 1981, 50: 62~65
- 2 Blackman P J, Davies W J. Root to shoot communication in maize plants of effects of soil drying. *Journal of Experimental Botany*, 1985, 36: 39~48
- 3 Zhang J, Schurr U, Davies W J. Control of stomatal behaviour by abscisic acid which apparently originates in roots. *Journal of Experimental Botany*, 1999, 44: 19~2053
<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb1999-44-19-2053>

- mental Botany, 1987, 38: 1174~ 1181
- 4 Zhang J, Daveis W J. Absciscic acid produced in dehydrating roots may be the plant to measure the water status of the soil. *Plant Cell and Environment*, 1989, 12: 73~ 81
- 5 Davies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Ann Rev Plant Physiology and Plant Mol Bio*, 1991, 42: 55~ 76
- 6 Jackson G E, Irvine J, Grace J, et al. Absciscic acid concentration and fluxes in draughted conifer saplings. *Plant Cell Environ*, 1995, 18: 13~ 22
- 7 Liang J, Zhang J, Wong M H. Can stomatal closure caused by xylem ABA explain the inhibition of leaf photosynthesis under soil drying? *Photosynthesis Research*, 1997, 51(2): 149~ 159
- 8 李吉越, 张建国, 黄金璞. 侧柏种源旱特性及其机理研究. 见: 林业部科学技术司编. 林业部青年学术讨论会论文集. 北京: 中国林业出版社, 1997. 260~ 266
- 9 Chen S, Wang S, Altman A, et al. Genotype-specific differences in drought tolerance of poplar in relation to absciscic acid. In: Bach I. *Environmental and Soil Issue in Poplar and Willow Cultivation and Utilization*. 20th Session of the International Poplar Commission. Budapest: Hungary, 1996. 555~ 562
- 10 Zhang J, Davies W J. Does ABA in the xylem control the rate of leaf growth in soil-dried Maize and sunflower plants? *J Experimental Botany*, 1990, 41(230): 1125~ 1132
- 11 Quarrie S A, Whitford P N, Appleford N E J, et al. A monoclonal antibody to (s)-absciscic acid: its characterization and use in a radioimmunoassay for measuring absciscic acid in crude extracts of cereal and lupin leaves. *Planta*. 1988. 173: 330~ 339
- 12 Zeevaert J A D, Creelman R A. Metabolism and physiology of absciscic acid. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1988, 39: 439~ 473
- 13 Johansson I, Larsson C, Ek B, et al. The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and are phosphorylated in response to Ca^{2+} and apoplastic water potential. *The Plant Cell*, 1996, 8: 1181~ 1191

(1999-01-20 收稿, 1999-05-25 收修稿稿)

大鼠胰腺 β 细胞内的钙库诱发钙信号

曾旭辉 瞿安连 娄雪林 徐建华 王君健^④
吴鸿修 周 专^{④*}

(华中理工大学生物物理与生物化学研究所, 武汉 430074; ④华中理工大学药物研究所, 武汉 430074; ④中国科技大学生命科学院, 合肥 230027. * 联系人. E-mail: zzhou@ustc. edu. cn)

摘要 以单个大鼠胰腺 β 细胞为实验对象, 用显微荧光法测量不同刺激下的钙信号. 有外 Ca^{2+} 条件下, 分别以葡萄糖、KCl 和甲苯磺丁脲(tolbutamide)刺激细胞, 均能导致细胞内自由 Ca^{2+} 浓度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)升高. 无外钙条件下, 5 mmol/L 咖啡因(cafeine)或乙酰甲胆碱(MCh)亦能独立地导致 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高, 说明 β 细胞内同时存在 IP_3 型和 ryanodine 型两类钙库. 咖啡因和乙酰甲胆碱诱发的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 响应延时分别是 30 和 5 s, 提示 IP_3 型信号通路较快.

关键词 胰腺 β 细胞 胞内钙信号 钙库 葡萄糖 fura-2

胰腺 β 细胞是一种电兴奋性内分泌细胞, 其主要功能在于分泌胰岛素. 胰岛素分泌的绝对或相对不足被公认为糖尿病的主要机理之一^[1]. 胞内自由钙离子在细胞信号转导中处于中