

渗透胁迫下群众杨根细胞中的 K^+ 累积效应*

周晓阳 张 辉 夏新莉

(北京林业大学生物学院, 100083, 北京; 第一作者 33 岁, 男, 副教授)

摘要 群众杨插条苗经 PEG 渗透胁迫处理后, 取根部样品, 经过快速冷冻、冷冻干燥、乙醚真空渗透及塑料包埋后, 用透射电镜 X-射线能谱微区分析技术, 对根表皮层、皮层及中柱薄壁组织细胞的细胞壁、细胞质和液泡中的 K^+ 含量与分布进行了测定。结果表明, 在渗透胁迫下, 在根各部位组织细胞的细胞壁、细胞质和液泡中, K^+ 含量都有不同程度的增加, 增加的 K^+ 主要积累在液泡中。渗透胁迫所促进的 K^+ 吸收可被蛋白质合成抑制剂环己酰亚胺所抑制。

关键词 群众杨; 根细胞 K^+ 累积; 渗透胁迫; 环己酰亚胺; X-射线微区分析

分类号 S718.43

渗透调节是植物适应干旱逆境的重要生理机制, 是植物抵抗水分胁迫的一种重要而有效的方式^[1]。植物细胞的渗透调节依赖于无机离子和有机小分子的积累、转运以及区域化。^[2]植物细胞内渗透势的变化由决定渗透势的渗透调节物质所控制, 植物累积这些物质的能力, 包括无机离子的吸收、运输、区域化和有机渗透调节物质的合成和转化, 反映了植物渗透调节的能力^[3]。 K^+ 是植物细胞中起渗透调节作用的重要无机离子, 细胞内 K^+ 累积是对渗透胁迫的早期反应, 在一定渗透胁迫范围内, 植物细胞以 K^+ 为主要的渗透剂单独地或和其它渗透剂一起均衡外界渗透压和维持膨压^[4,5]。细胞内 K^+ 浓度的变化可诱导或有利于某些与抗渗透胁迫有关的物质的合成和基因表达, 从而调节细胞的功能^[6~9]。因此, K^+ 的累积在渗透调节中起着重要作用, 本文采用生物制备新技术^[10], 以保持 K^+ 在植物组织细胞中的原位固定, 用透射电镜 X-射线能谱微区分析方法^[10~11], 研究群众杨根的各部位组织细胞中的 K^+ 含量变化, 以期从细胞和亚细胞水平对根细胞中 K^+ 的吸收、累积及区域化有一个深入的了解。

1 材料与方 法

1.1 植物材料的培养和处理

以群众杨 (*Populus × xiaozhuanica* W. Y. Hsu et Liang cv. 'Popularis' 35-44) 1 年生插条苗为实验材料, 在温室中用 1/2 强度的 Hoagland 溶液进行水培。待长到 10 片叶时, 将 PEG-6000 (聚乙二醇, 分子量 6 000) 加到营养液中, 配成水势为 -1.0 MPa 的溶液, 用 PEG 处理苗木根系 12、24、36 h 后采样, 以同样条件下生长未经 PEG 处理的植株为对照。当观察蛋白质合成抑制剂环己酰亚胺 (CHM) 的抑制作用时, 将浓度为 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CHM 加到有或无 PEG 的营养液中, 处理时间为 24 h。

1.2 X-射线微区分析样品的制备

在距根尖 2 cm 处, 用锋利刀片切取 2 mm 长的根段, 迅速投入到液氮中进行冷冻固定, 样

* 1996~1998 年国家自然科学基金资助课题“干旱胁迫下杨树气孔运动机制研究”的部分内容。
1999-02-10 收稿。

品经冷冻干燥, 乙醚真空渗透, 塑料包埋后, 制成 $1\ \mu\text{m}$ 厚的半薄切片, 喷碳后备用。

1.3 X-射线微区分析的测定

将制备好的切片, 在配有 EDAX-9100 能谱仪的日立 H-800 型透射电镜下进行测定。加速电压为 $150\ \text{keV}$, 取出角为 25° ; 样品的测量计数时间为 $60\ \text{s}$, 测出的数值分别表示每种元素的峰值减去其背景值后的每秒脉冲数 (CPS)。在检测时, 对每组处理的两株群众杨苗的根切片进行重复检测, 在所测每一组织区域的微区, 至少测试 7 个点^[11]。

2 结果与分析

2.1 渗透胁迫下根不同部位组织细胞中 K^+ 的含量与分布

X-射线微区分析结果显示(图 1), 在 PEG 胁迫处理 12、24、36 h 后, 根表皮层细胞的细胞壁 K^+ 含量分别比对照增加 8.5%、17.8% 和 1.7%; 细胞质 K^+ 含量分别比对照增加 21.5%、44.6% 和 18.5%; 而液泡中 K^+ 含量则分别比对照增加 40.4%、71.6% 和 39.0%。根皮层细胞的细胞壁 K^+ 含量分别比对照增加 18.7%、29.3% 和 21.1%; 细胞质 K^+ 含量分别比对照增加 20.0%、54.1% 和 19.3%; 液泡 K^+ 含量则分别比对照增加了 46.9%、73.4% 和 40.6%。除在 PEG 处理 24 h 后细胞质 K^+ 与对照相比增加较多外, 在 3 个不同时间处理下细胞壁与细胞质 K^+ 含量增加并不多, 都在 20% 左右。 K^+ 含量增加最多的部位仍是液泡。根中柱薄壁组织细胞的细胞壁 K^+ 含量分别比对照增加 14.5%、27.3% 和 7.3%, 细胞质 K^+ 含量分别比对照增加 21.4%、40.0% 和 20.7%; 液泡 K^+ 含量分别比对照增加 67.4%、80.3% 和 59.8%。

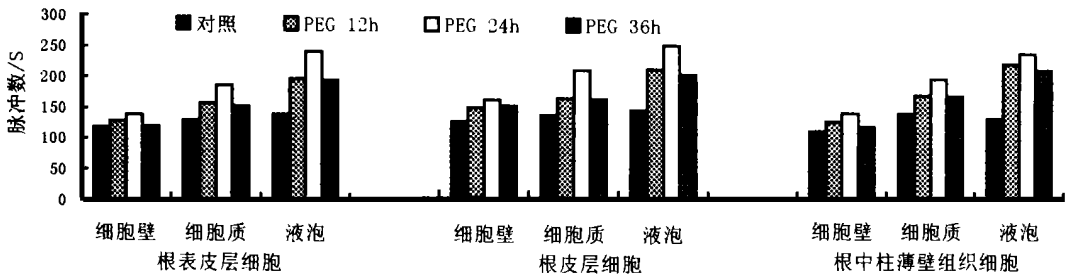


图 1 不同时间 PEG 处理下的不同部位细胞的细胞壁、细胞质和液泡中的 K^+ 含量

综上所述, 在 PEG 模拟的渗透胁迫处理下, K^+ 在根各部位组织细胞中的含量都有不同程度的增加, 表明渗透胁迫显著刺激了根各部位组织细胞中 K^+ 的累积。

在不同时间的 PEG 处理下, 在根各部位组织细胞中 K^+ 含量变化又是各不相同的。在 PEG 处理 12 h 后, K^+ 开始积累, 提示植物细胞已开始对渗透胁迫作出反应; 在 PEG 处理 24 h 后, K^+ 累积达到最大, 表明此时 K^+ 对渗透胁迫的调节能力已达最大范围; 随着 PEG 处理时间延长至 36 h, K^+ 含量已从最高点开始下降, 表明 K^+ 对渗透胁迫的调节能力开始下降。不同胁迫时间刺激 K^+ 累积的差异表明, 渗透胁迫诱导 K^+ 累积的增加与 K^+ 对渗透调节的作用和敏感性密切相关, 随着胁迫时间的延长, K^+ 累积达到最大, 说明 K^+ 的调节作用是有限的, K^+ 积累只在植物渗透调节初期起重要作用, 当胁迫时间更长时, 则需要其它有机小分子物质的渗透调节系统来配合, 如脯氨酸和甜菜碱等以及与其有关的运输和合成系统。

在细胞壁和细胞质中, K^+ 虽有增加, 但增加的量并不多, 增加的 K^+ 主要累积在液泡, 这说

明液泡是渗透胁迫下 K^+ 累积的主要场所。这个结果也表明了 K^+ 的转运途径,即在渗透胁迫下 K^+ 通过质膜转入细胞质中,然后又通过液泡膜进入到液泡,最后积累在液泡中。

2.2 蛋白质合成抑制剂 CHM (环己酰亚胺) 对 K^+ 累积的抑制作用

从图2可以看出,在营养液中单独加入 CHM 时, K^+ 在根表皮层的细胞壁、细胞质和液泡中的含量与对照相比几乎没有变化。在培养液中单独加入 PEG 造成渗透胁迫 24 h 后, K^+ 在细胞壁、细胞质和液泡中的含量分别比对照增加 17.8%、44.6% 和 71.6%;但在培养液中同时加入 CHM 和 PEG 时, K^+ 在细胞壁和液泡中的含量分别比对照增加 3.4% 和 7.8%,而细胞质中 K^+ 含量比对照减少 2.3%。

在图2中还可见,单独用 PEG 处理时, K^+ 在根皮层细胞的细胞壁、细胞质和液泡中的含量分别比对照增加 29.3%、54.1% 和 73.4%;而在 CHM 与 PEG 同时处理时, K^+ 在上述 3 个部位的含量分别比对照增加 5.7%、4.4% 和 11.9%。

在根中柱薄壁组织细胞中,当 CHM 与 PEG 同时处理时, K^+ 在细胞壁、细胞质和液泡中的含量分别比对照增加 9.1%、9.3% 和 12.1% (图2), K^+ 含量与对照相比,同根表皮层和皮层细胞中的情况相似,即没有太大的改变。

CHM 是一种阻遏蛋白质合成的抑制剂,它本身对根中 K^+ 的累积无影响 (图2)。在营养液中单独加入 CHM 时,植物根能正常吸收 K^+ ,根各部位组织细胞中的 K^+ 含量与对照相似,没有什么差别。在营养液中单独加入 PEG 处理 24 h 后, K^+ 在根各部位组织细胞中的累积达到最大,但如果在加入 PEG 的同时加入 CHM,则 PEG 胁迫所促进的 K^+ 的累积效应基本消失或大大降低,即 CHM 抑制了渗透胁迫下 K^+ 的累积效应 (图2)。

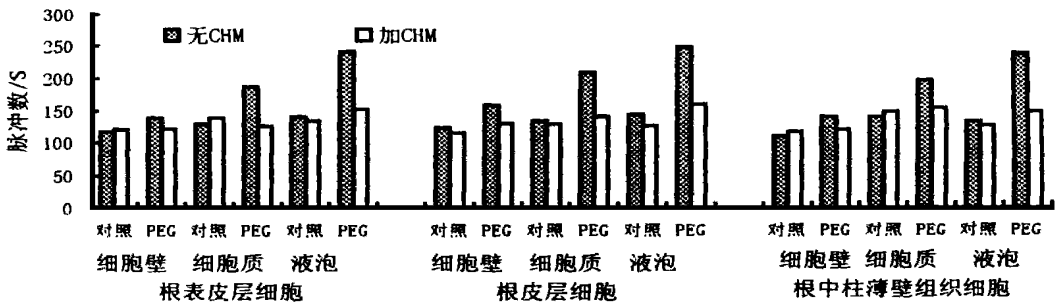


图2 PEG和CHM同时处理24h后的不同部位细胞的细胞壁、细胞质和液泡中的 K^+ 含量

CHM可抑制由PEG刺激的 K^+ 累积说明,由渗透胁迫诱导的 K^+ 累积需要某些新合成的蛋白质的参与。本文的结果表明,渗透胁迫所诱导的 K^+ 累积依赖于对 K^+ 具有高亲和力的蛋白质的合成,已有研究表明,PEG胁迫下高粱根中66KD多肽的增多与 K^+ 累积增加有密切的相关性^[12]。这进一步证实了渗透胁迫下所诱导的 K^+ 累积进程依赖于蛋白质的合成。

3 结论

K^+ 的吸收是植物对水分胁迫适应过程中渗透调节的一个重要环节, K^+ 的累积在渗透调节中起着重要作用。外界渗透胁迫在很大程度上刺激了 K^+ 的累积,在渗透胁迫下 K^+ 在1年生群众杨插条苗根各部位组织细胞中都有明显的增加,但增加的 K^+ 在细胞中有一个区域化效应,主要积累在液泡中,X-射线微区分析结果证实了这一点。延长胁迫时间诱导了 K^+ 累积,

但是超过一定范围后, 植物 K^+ 累积减缓, 提示 K^+ 积累只在植物渗透调节初期起重要作用。CHM 的抑制实验证实, 渗透胁迫可刺激根细胞对 K^+ 的吸收, 但这种 K^+ 的吸收过程依赖于蛋白质的合成。这也说明应在与 K^+ 吸收相关蛋白质的分离及特性方面进行深入的探讨。

参 考 文 献

- 1 汤章城. 对渗透和淹水胁迫的适应机理. 见: 余叔文, 汤章城主编. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 1998. 739.
- 2 Spickett C M, Smirnov N, Ratcliffe R G. Metabolic responses of maize roots to hyperosmotic shock. *Plant Physiol.*, 1992, 99: 856 ~ 863.
- 3 汤章城. 植物对环境的适应和环境资源的利用. *植物生理学通讯*, 1994, 30(6): 401 ~ 405.
- 4 Sutherland L, Cairney J, Elmore M J. Osmotic regulation of transcription induction of the proU betaine transport gene is dependent on accumulation of intracellular potassium. *J. Bacteriol.*, 1986, 168: 805.
- 5 Binzel M L, Hess F D, Bressan R A. Intracellular Compartmentation of ion in salt adapted tobacco cells. *Plant Physiol.*, 1988, 86: 607.
- 6 Munro G F, Sauerbier W. Osmotically induced excretion of putrescine by mutants of *Escherichia coli* defective in potassium transport. *J. Bacteriol.*, 1973, 116: 488.
- 7 汤章城, 王育启, 吴亚华, 等. 钾在高粱苗水分亏缺时脯氨酸累积中的作用. *植物生理学报*, 1984, 10(3): 209 ~ 215.
- 8 Pollard A, Wyn Jones R G. Enzyme activity in concentrated solutions of glycinebetaine and other solutions. *Planta* 1979, 144: 291.
- 9 Hand S C, Somero G N. Urea and methylamine effect on rabbit muscle phosphofructokinase. *J. Bio. Chem.*, 1983, 257: 734.
- 10 Fritz E. X-ray microanalysis of diffusible elements in plant cells after freeze-drying, pressure infiltration with ether and embedding in plastic. *Scanning Microsc.*, 1989, 3: 517 ~ 526.
- 11 Li Qi, Fritz E. X-ray microanalysis of ion contents in roots of *populus maximowizii* grown under potassium and phosphorus deficiency. *J. Plant Physiol.*, 1991, 138: 180 ~ 185.
- 12 贺志理, 汤章城. PEG 胁迫下高粱根中 66KD 多肽的增多与 K^+ 累积增强的关系. *科学通报*, 1993, 38(23): 2190 ~ 2193.

K^+ Accumulation in Poplar Roots Induced by Osmotic Stress

Zhou Xiaoyang Zhang Hui Xia Xinli

(College of Plant Science, Beijing Forestry University, 100083, Beijing, China)

Abstract Cuttings of *Populus × xiaozhuanica* W. Y. Hsu et Liang cv. 'Popularis' 35-44 were treated with PEG solution. After fast freezing, freeze-drying, pressure infiltration with ether and embedding in plastic, K^+ content were measured by X-ray microanalysis in cell wall, cytoplasm and vacuole of rhizodermis, cortex and stelar parenchyma cells of roots. Compared to the controls, K^+ content in all root tissues were increased by osmotic stress. In particular, the increasing K^+ was largely accumulated in vacuole. The K^+ accumulation induced by osmotic stress could be inhibited completely by cycloheximide.

Key words poplar; K^+ accumulation in root; osmotic stress; cycloheximide; X-ray microanalysis