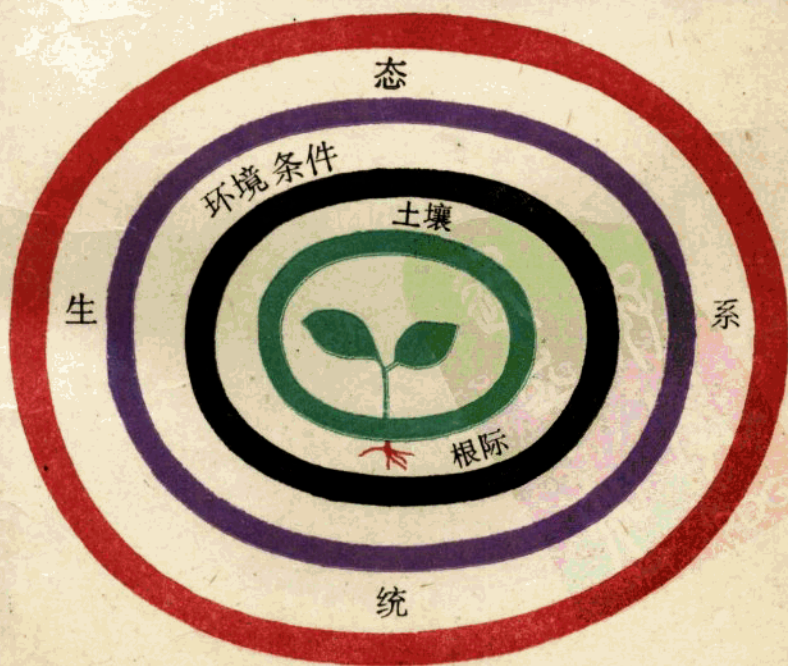


土壤与植物营养 研究新动态

(第二卷)

张福锁、樊小林 李晓林 主编



中国农业出版社

土壤与植物营养 研究新动态

(第二卷)

张福锁 樊小林 李晓林 主编

土壤与植物营养研究新动态

(第二卷)

张福锁 樊小林 李晓林 主编

* * *

责任编辑 贺志清

中国农业出版社出版发行(北京市朝阳区农展馆北路2号)

北京市密云县印刷厂印刷

850×1168mm32开本 12印张 300千字

1995年8月第1版 1995年8月北京第1次印刷

印数 1—2000册 定价 13.50元

ISBN 7-109-03963-3/S·2480

编者名单

- | | |
|-----------|---|
| 张福锁 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 王震宇 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 李春俭 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 刘宏滨 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 江荣凤 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 李志宏 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 张渐伶 | (北京农业大学植物营养系, 100094) |
| 韩振海 | (北京农业大学园艺系, 100094) |
| 石正强 | (北京农业大学生物学院, 100094) |
| 韦东普 | (中国农科院原子能所, 100094) |
| 白玲玉 | (中国农科院原子能所, 100094) |
| 华 珞 | (中国农科院原子能所, 100094) |
| 樊小林 | (西北农业大学土化系, 712100) |
| 何新华 | (云南师范大学生物系, 650011) |
| 陈一新 | (中国科学院上海植物生理研究所, 200032) |
| 周启星 | (浙江农业大学环保系, 310029) |
| Wang Jian | (Soil, Plant and Environmental Chemistry , University of Kentucky, N-122 Agricultural Science Center North, Lexington, KY405460091 USA) |

前 言

生物科学、计算机技术和信息科学的迅猛发展,为土壤与植物营养科学的进步奠定了坚实的基础;学科间的相互交叉渗透,也为这一学科的创新提供了良好的机遇。如何吸收相邻学科如植物生理学、遗传学、生态学、园艺学和环境科学的精华,特别是采用相邻学科新的研究技术,进行土壤与植物营养研究,是摆在我们面前的重要问题。本书就是针对上述情况,以介绍不同学科新的研究技术及其应用情况为主线,讨论了植物营养的生理学、遗传学和生态学及土壤学某些研究方面的新进展和动态,为土壤与植物营养研究提供新的方法和途径。

本书是继1992年《土壤与植物营养研究新动态》(第一卷)出版发行之后,由国内外17位青年科技工作者撰写的文集。此文集还将继续组织出版以后各卷,以期起到相互交流、相互促进的作用。

在本书征稿和出版过程中,承蒙北京农业大学植物营养系许多同事的鼓励和指导,也受到国内许多同行和朋友的支持,在此表示感谢。我的老同学,陕西省洛南县农业技术推广站的刘全清从审稿、改稿到打印和编排,自始至终做了大量工作,在此谨致衷心感谢。同时也感谢国家自然科学基金会的资助。由于编者水平所限,书中缺点、错误和不足之处在所难免,恳请读者指正。

张福锁

1995年4月于北京

目 录

前言

离子通道的生物学和遗传学研究进展	王震宇、张福锁、李春俭 1
------------------------	---------------

一、膜片钳技术	1
二、离子通道的作用方式	3
三、离子通道的功能特性与矿质营养	3
四、通过质膜的离子通道	5
五、通过液泡膜的离子通道	8
六、离子通道的遗传学	10
七、结论与展望	11

食物链中植物矿质养分的生物有效性及其与粮食作物品质的

关系	张福锁、樊小林、刘宏滨 17
----------	----------------

一、矿质养分的生物有效性及其重要性	17
二、影响矿质养分生物有效性的因素	21
三、农业措施与作物矿质营养品质	23
四、植物营养对粮食作物产品品质的影响	33
五、今后的研究方向	36

NH_4^+-N 和 NO_3^--N 的营养特点

樊小林、张浙玲、张福锁 42

一、吸收及其机理	42
二、同化及运输过程	50
三、同化过程中植物体内无机离子的分布	54
四、同化过程中有机离子的合成与分布	57
五、不同氮素形态对植物生态和生理的影响	64
六、结论	69

NO_3^- 同化过程中的能量供应

石正强 76

一、 NO_3^- 同化过程中的酶学反应及能量需要	76
--	----

二、在光照条件下,光合组织叶片中 NO_3^- 同化过程中所

需要能量的来源	77
三、黑暗条件下光合组织中 NO_3^- 同化过程所需能量的来源	82
四、 NO_3^- 在非光合组织(根)中同化时所需能量的来源	83
五、结束语	84
C_3 和 C_4 禾本科作物的氮素利用效率	何新华 88
一、引言	88
二、 C_3 和 C_4 植物氮素同化所需酶类的空间定位和对外加 NO_3^- 的响应	94
三、 C_3 禾本科作物氮素利用效率的遗传学改良	98
大豆结瘤基因突变体及其在豆科作物氮素营养研究中的应用	江荣凤、张福锁、李春俭 108
一、大豆结瘤基因突变体的诱变与分离	109
二、大豆超结瘤突变体表现型特点	110
三、大豆结瘤作用的调控机制	114
四、结瘤突变体在豆科植物氮素营养研究中的作用	117
微型张力计在植物根系提水作用及养分效应研究中的应用	樊小林、张福锁、李春俭 120
一、用微型张力计实地测定土壤基质势和提水作用的实验方法	122
二、土壤基质势和根系提水率(Water extration rate)的测定	125
三、根系提水作用与土壤水分和土壤养分的有效性	126
四、根系提水作用研究展望	131
养分运输系统的诱导和抑制	李志宏、樊小林、张福锁 137
一、引言	137
二、氮	139
三、硫酸盐	147
四、磷酸盐	151
五、钾	155
六、钠	157
七、铁	158
八、结论	159
植物细胞质钙的光学荧光测定法	

.....	王震宇、张福锁、李春俭	170
一、引言		170
二、fura-2 的荧光测定		172
三、fluo-3 的荧光测定		174
四、结论		175
叶绿素荧光生物测定技术在植物胁迫评价中的应用		
.....	王震宇、张福锁、李春俭	177
一、光合器官的一般描述		178
二、测定方法		182
三、荧光的利用		185
四、整株植物荧光的利用		187
植物样品内元素的定位分析	陈一新	190
一、放射自显影术		191
二、组织化学反应		194
三、X 射线微区分析		198
土壤系统中养分循环的生物学途径		
.....	樊小林、李志宏、张福锁	203
一、引言		203
二、土壤发育与土壤生物化学、土壤化学的关系		204
三、生物相互作用		207
四、生物相互作用的理论		216
五、结论		218
营养物质的生物地球化学	周启星	222
一、概念性问题的探讨和争议		222
二、营养物质缺乏或过多的生物地球化学		225
三、营养物质生物地球化学循环机制及动力学		227
四、未来研究展望		231
钙对植物抗盐和抗铝性的影响	张福锁、樊小林、李春俭	236
一、植物钙营养细胞生理学研究进展		236
二、钙对植物抗盐性的影响		243
三、钙对植物抗铝毒的影响		254

植物对重金属毒害的抗性机理	Wang Jian、樊小林、张福锁 296
一、概述	296
二、逃避机理	298
三、内部忍受机理	304
四、结论与研究展望	311
广义土壤缓冲性原理与土壤环境质量	华路、韦东普、白玲玉 320
一、土壤缓冲性的研究历史	320
二、土壤缓冲性概念及其研究现状	323
三、广义土壤缓冲性与土壤污染	330
四、土壤缓冲性研究及展望	338
果树营养研究的理论与实践	
I. 我国果树营养研究已取得的成就	韩振海 343
一、果树标准叶样及叶内矿质元素含量标准	343
二、果实营养与采后营养生理	344
三、果树储藏营养特性的研究	345
四、菌根与果树营养的关系	346
五、种质资源与果树营养的关系	347
六、以营养为主导的多学科综合性研究	349
果树营养研究的理论与实践	
I. 我国果树营养领域尚需研究的理论与实践问题	
..... 韩振海 355	
一、果树营养领域尚需研究的主要理论问题	355
二、我国果树营养研究的实践	358
果树营养研究的理论与实践	
II. 果树组织培养进展及组培苗驯化中的营养问题	
..... 韩振海 364	
一、果树组织培养的现状 & 前景	364
二、组培苗的形态、解剖和生理特点及驯化过程中的营养问题与 对策	365

离子通道的生理学和遗传学研究进展

无机和有机离子经离子通道、离子泵及离子载体在高等植物质膜和细胞器膜上的运输,是生命过程(如渗透调节、生长发育、信息传导及物质贮存等)的基础。近 20 多年来,人们已从生理与生物化学角度对这些传递蛋白作过详尽的研究,并取得了很大进展。现代新技术的发展和改进使我们已经能够在分子水平上开展传递蛋白及其转运机理的研究。本文着重讨论近年来有关植物离子通道的分子生物学机理及研究前景,其中也涉及到其遗传研究方面的一些进展。

离子通道是细胞膜中由大分子组成的孔道。可为化学方式或电学方式所激活并控制离子通过细胞膜的顺势流动。离子通道最基本的特征是它们每秒钟能够传递 10^6 个离子,大约比载体运转子(如离子泵)还快 1000 倍。另一个基本特征是能快速开启和关闭。有许多因素影响着离子通道的门控。如电位梯度、离子磷酸化、G 蛋白和各种配位体(Tester, 1990)。膜片钳技术(patch-clamp technique)应用到离子膜传递的研究领域以后,使人们对离子通道的认识从生物化学概念进入了分子生物学的水平。

一、膜片钳技术

膜片钳(patch-clamp, PC)技术,即从一小片(约几平方微米)细胞膜获取电子学方面信息的技术(Auerbach and Sach, 1984; Rae and Levis, 1984; Takeda et al., 1985),也即:跨膜电压保持恒定——电压钳位,从而测量通过膜的离子电流大小的技术。

它最早被用于直接测量通过单离子通道某一元素的电流(Neher and Sakmann, 1976)。以后逐渐发展成为能记录膜片或完整小细胞电子流的技术。

PC 技术的特点是:①能直接测量出生物膜的单离子通道电流;②可以对细胞或非细胞的膜片进行电压或电流固定;③可以对膜片进行物理分离。此外,膜片可以破裂,但仍保持电极与细胞膜的贴附,这样就提供了一个直接的、以低电阻达到细胞内部的通路,因此有可能对小细胞(直径小于 $20\mu\text{m}$)进行电压、电流固定和电位记录。它的新颖之处就在于它可以获得亿欧姆的封接电阻。由于玻璃微电极与细胞膜之间的高阻封接非常稳定和牢固,使 PC 技术具有多种测量方式。以原生质体或液泡为材料,目前有六种测量方式(图 1)。

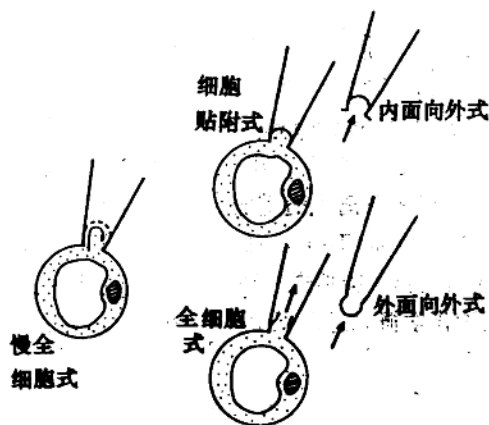


图 1 PC 技术的各种测量方式

PC 技术用于植物细胞研究始于 1984 年(Hedrich and Schroeder, 1989; Moran et al., 1984),但落后于动物细胞研究,

原因在于植物细胞外有细胞壁,无法进行高阻封接。随着原生质体制备及纯化技术的发展,才使这项技术成功地用于植物细胞研究,自 Moran 等人(1984)首次以小麦(*Triticum aestivum*)酶解得到的叶原生质体为材料,分别用“内面向外”和“外面向外”两种记录方式,观测到几种离子通道以来,高等植物细胞离子通道的研究有了很大的发展。PC 技术是生物膜离子通道研究的一个重大突破,它为从分子水平上了解生物膜离子通道的动力学,膜的特性等提供了直接的手段。

二、离子通道的作用方式

离子通道在以下几个过程中起着重要的作用:①大量净输出的渗透调节(Hedrich and Schroeder, 1989; MacRobbie, 1988);②通过膜传递信号(Davies, 1987; Schroeder and Hagiwara, 1990);③调节膜电位(Francidini and Petris, 1990)。根据以上几种离子运输过程推测,植物离子通道的类型有:渗透转运型,信息传递型,梯度控制型。由于养分离子跨膜运输是通过膜电位控制的,而膜电位很可能与离子通道有着紧密的联系,因此,离子通道在植物矿质营养研究中具有重要的意义。

三、离子通道的功能特性与矿质营养

(一)选择性

离子通道可分为阴离子型和阳离子型两种。由通道蛋白上单个氨基酸控制的选择性具有差异并不足以为奇。一些通道在相似的离子间存在高度的选择性,如在小麦中 K^+/Na^+ 渗透比约为 30。而有一些通道对某些阳(阴)离子则没有选择性,如胚乳细胞中有一种无选择性的阳离子通道(Stoeckel and Takeda, 1989),苋菜属的阴离子通道对 NO_3^- 和 Cl^- 有着相似的渗透性(Terry et al.,

1991; Tyerman and Findlay, 1989)。可见不同类型的离子通道对不同的离子有着不同的选择性。

(二)调节性

人们已经认识到,在某一特定电压下,由离子通道产生的整个膜电流是由以下三个因子决定的:一是膜上的通道密度(D),二是全部通道开放的时间概率(P_o),三是单通道的电流(I_{ca})。实验表明,很多通道都表现出瞬间传导,使得在一特定电压 V_m 下,产生了不连续的 I_{ca} 值。苋菜属植物子叶/胚轴原生质体膜阴离子通道电流图即是一例(图 2)。一定的 V_m 下,瞬间电流不一定说明通道开放状态不同与通道蛋白构象不同有关。膜电流等于所有亚状态的 P_o 与 I_{ca} 乘积总和再乘以 D :

$$I_m = D \cdot \sum_{i=1}^n P_i \cdot I_{ca}$$

式中三个因子可依离子通道的改变而变化,进而改变膜电流。同时,它们也会受到多种因素的影响。某一特定通道的 P_o 也会受到膜电压 V_m (Keller et al., 1989)、激素(Blatt, 1990; Schroeder and Hagiwara, 1990),包括 Ca^{2+} 的细胞质化学信号(Alexandre et al., 1990; Hedrich, 1990),磷酸核苷酸的存在(Hedrich et al., 1990; Terry et al., 1991)、pH(Ian et al., 1991; Tyerman et al., 1986b)以及透膜体离子浓度(permeant ion concentration)(Lew, 1991)等的影响。

(三)离子流具有饱和现象

通道中离子饱和时的浓度往往较高,如轮藻属藻原生质体的 K^+ 通道在 100mV 时 K_m 为 87mol m^{-3} (Laver et al., 1989)。因此,在正常生理范围内,通道所调节的离子流量与离子浓度之间呈现出一种线性关系。

在浓度较低时,仍有可能出现饱和现象。因为离子通道的 P_o 值可直接或间接地被透膜体离子(如 Cl^- 、 NO_3^-)所调节。当透膜

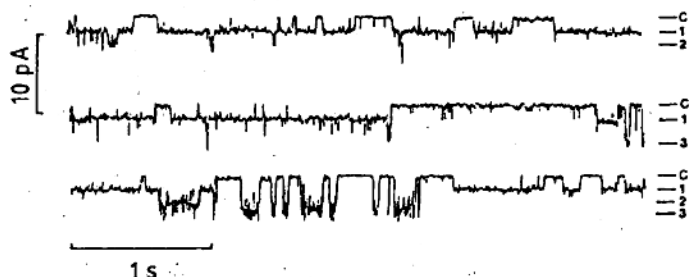


图2 利用PC技术记录的苋菜属三色苋质膜中阴离子通道的电流随时间的变化图谱

PC技术的测量方式为外面向外式(outside-out),其 $V_m = -95\text{mV}$ 。电流值向下运行表示通道开放并说明了 Cl^- 从细胞向外流。从图中可以看出有三个传导水平(1,2,3; C代表通道关闭。 V_m 为负时通道被激活。通道在全部敞开的状态下具有很高的传导性,并且在传导水平之间显示出复杂的跃迁(Terry et al., 1991)

体离子浓度直接受通道变构反应影响或间接通过 V_m 变化而增加时,通道保持开放的时间比率就会下降。不同的传导水平可能相应于不同的浓度,不同的传导水平下也有不同的选择性。离子通道的这些特性都说明了通道的复杂性,即它们并不仅仅是一个孔。

四、通过质膜的离子通道

随着PC技术的广泛应用,在高等植物质膜上发现的离子通道越来越多。除了已用实验证明的 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 通道外,从高等植物中有机离子跨膜传递的事实来看,在质膜上很可能存在着供有机离子通过的通道。

(一) K^+ 通道

K^+ 跨膜传递与植物的生长发育过程,如萌发(Jones, 1973)、

叶运动(Satter et al., 1974)、气孔运动(Raschke, 1979)、根系中的离子吸收、韧皮部运输和养分贮存(Lüttge et al., Pitman, 1976)等都密切相关。由于 K^+ 通道在调节 K^+ 运输方面具有重要作用,因而倍受人们的重视。特定的组织很可能具有特定的 K^+ 通道去适应它们的生理需要。从保卫细胞中已鉴定出两种 K^+ 通道,一种是允许 K^+ 外流的通道,一种是 K^+ 吸收的内流通道(Schroeder, 1988; Schroeder et al., 1987)。两种通道都受膜电位的控制。

1. K^+ 外流通道

诱导 K^+ 外流的通道被认为是高等植物细胞 K^+ 释放的一条途径。目前已获得了生物学和药理学的证据来支持这一假设。当膜电位去极化到大于 -40mV 时, K^+ 的外流通道被激活, K^+ 外流。有资料表明,每个保卫细胞原生质膜上有近 10^3 个 K^+ 外流通道。现已发现在许多高等植物细胞中存在有 K^+ 外流通道。如叶肉机动细胞(Moran et al., 1988)、马利筋的悬浮培养细胞(Schauf and Wilson, 1987)、糊粉层细胞(Bush et al., 1988)、玉米悬浮培养细胞(Ketchum and Poole, 1988)、表皮细胞、马利筋原生质体愈伤组织等。不同植物原生质体中发现的 K^+ 外流通道与藻类细胞和酵母调节的 K^+ 向外传递具有很相似的性质。例如,与蚕豆相比,在Nitella保卫细胞中,依赖电位的 K^+ 通道对碱金属离子选择性渗透的顺序是一致的(渗透性顺序为: $P_{K^+} > P_{Rb^+} > P_{Na^+} > P_{Li^+} > > P_{Ca^{2+}}$)。

2. K^+ 内流通道

植物 K^+ 内流通道最初在保卫细胞中得到证明(Schroeder et al., 1987)。当保卫细胞质膜的膜电位极化到 $<100\text{mV}$ 时, K^+ 内流通道被激活。目前已发现有 K^+ 内流通道的组织细胞有:糊粉层细胞(Bush et al., 1988)、玉米悬浮培养细胞(Ketchum and Poole, 1988)、胚芽鞘原生质体、烟草肿瘤细胞和表皮细胞。

3. K^+ 通道的化学调控

各种外界刺激影响着植物细胞中的 K^+ 运输通道。某些化学

因子可能直接参与了 K^+ 通道的调节。但迄今为止,还没有获得 K^+ 通道化学调控的直接证据。在藻类细胞中,外加 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、pH、光和原生质基质等都会刺激 K^+ 通道,使之瞬间激活(Köhler et al., 1986; Tahler et al., 1987)。

有研究表明,质膜上有受 Ca^{2+} 调节的 K^+ 运输通道,但研究结果不尽一致。 Ca^{2+} 调节的 K^+ 通道有的可被 Ca^{2+} 激活,有的则被 Ca^{2+} 抑制(Jaffe, 1966)。对保卫细胞中壳梭孢素作用的研究证实, Ca^{2+} 除了能激活 H^+ 泵外,还能对 K^+ 通道产生负效应(Blatt, 1988);将蚕豆叶片保卫细胞置于 $10\mu\text{mol L}^{-1}$ ABA 溶液中, K^+ 通道平均开放时间会从 1.25 ms 增至 2.05ms(Flügge and Beng, 1984), Ca^{2+} 似乎有协同效应。在以后的工作中,应结合 PC 技术对 pH、 Ca^{2+} 和 ABA 等因素相互作用进行细致的研究,以便阐明高等植物体中信息传递、气孔运动的原初步骤,尤其是离子的吸收和运输等生理代谢过程。

(二) Cl^- 通道

在 *Asdepias tuberosa* 悬浮培养原生质体内已获得了 Cl^- 通道的证据(Schauf and Wilson, 1987)。在原生质体 Ca^{2+} 浓度(2 mmol L^{-1})和 pH5.8 条件下记录到的这些通道具有很强的电压依赖性,通道通量很大,并且可被 Zn^{2+} 抑制。另外,在 *Chara* 质膜上已测得了单 Cl^- 通道电流(Coleman, 1986; Tazawa et al., 1987)。

(三) 二价阳离子吸收的离子通道

从大量研究资料来看,绝大多数有关离子通道的报道都集中于 K^+ 通道上,但也有一些二价阳离子通道的研究。

基于近来对豌豆铁还原和吸收机理的研究,人们推测阳离子通道很可能与微量元素二价阳离子 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Mn^{2+} 的吸收有关(Kochian et al., 1991; Welch et al., 1993)。当豌豆幼苗缺铁时,会诱导或刺激高铁螯合还原酶,使二价阳离子的含量增加(Kochian et al., 1991)(表 1)。

表 1 豌豆幼苗缺铁对根中二价阳离子含量的影响

处理	根阳离子含量($\mu\text{g g}^{-1}$)				
	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Zn^{2+}	Mn^{2+}	Cu^{2+}
+Fe	3235	5307	176	298	8
-Fe	3986	9793	528	350	104

与充足供铁相比,缺铁豌豆根中 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Mg^{2+} 明显增加,另外, Welch 等(1993)发现高铁还原酶的诱导对于缺铁是非专一性的。缺铜也诱导此还原酶。Jollery 和 Brown(1991)也证明,高铁还原酶不只由铁形态调控,一些菜豆基因型缺锌也刺激根的高铁还原酶活性。关于诱导的铁还原酶活性、二价阳离子的吸收、离子通道之间关系方面, Kochian(1993)最近提出了一个二价阳离子通过阳离子通道的假设模型(图 3),这种阳离子通道受到质膜铁还原酶活性的影响。此模型描述了一些微量金属元素(锌、铁、铜)缺乏的反应,这种还原酶能被诱导并可将电子传递给外源 Fe^{3+} 和其他未知的电子受体。同时,在根细胞质膜上,对 Zn^{2+} (可能也有其它二价阳离子)吸收起作用的是二价阳离子通道。这个模型虽然还存在许多不清楚的地方,但它解释了一些近来有关矿质运输的研究结果,并且可作为进一步实验的新起点。

五、通过液泡膜的离子通道

成熟的植物细胞具有一个很大的中心液泡。在细胞代谢过程中,液泡中溶液的贮存和释放都很重要。同时,其在维持渗透压平衡和调节不同电荷电位方面都起着重要的作用。液泡膜能产生并利用离子和代谢物质的高浓度梯度,有助于推动 H^{+} 、 Ca^{2+} 或苹果酸从液泡分室进入细胞质(Gerhardt and Heldt, 1987; Hepler and Wayne, 1985; Kaiser et al., 1982; Karlsson, 1975)。跨越液泡膜的溶液运输的调节能够对跨膜的不同电位变化及渗透性产生影响。