

# 质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 与环境胁迫

刘尼歌, 王占义, 莫丙波, 杨存义, 严小龙, 沈宏\*

(华南农业大学植物营养遗传与根系生物学研究中心, 广州 510642)

**摘要:** 植物根系质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 在调节细胞内 pH 值, 促进养分吸收、同化物运输等方面具有重要作用。对质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的结构、功能和分子机制进行综述, 并讨论了质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 在信号传递过程及植物适应环境胁迫中的作用, 最后就植物质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的研究及应用提出几点看法。

**关键词:** 综述; 质膜 H<sup>+</sup>-ATPase; 分子机制; 环境胁迫

**中图分类号:** Q945.78

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-3395(2006)03-0263-06

## Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase and Environmental Stress

LIU Ni-ge, WANG Zhan-yi, MO Bing-bo, YANG Cun-yi, YAN Xiao-long, SHEN Hong\*

(Lab. of Plant Nutritional Genetics, and Root Biology Research Centre, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstracts:** Plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase plays important roles in regulation of pH in cells, in enhancement of nutrient uptake and in transportation of assimilates. This paper reviews plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase under the following headings: structure, function and molecular mechanism, signal transduction events; response of plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase to environmental stresses. Future prospects are presented as well.

**Key words:** Review; Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase; Molecular mechanism; Environmental stress

1972年, Hodges等<sup>[1]</sup>发现质膜微囊具有膜结合的ATPase水解活力, 由此发现了质膜H<sup>+</sup>-ATPase。最近的三、四十年, 有关植物质膜H<sup>+</sup>-ATPase的研究很多, 对质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性调节及其分子机制的认识取得了显著的进展。本文对质膜H<sup>+</sup>-ATPase的结构、功能和分子机制进行综述, 并讨论了质膜H<sup>+</sup>-ATPase在信号传递过程及植物适应环境胁迫中的作用, 为进一步深入研究质膜H<sup>+</sup>-ATPase提供参考。

### 1 H<sup>+</sup>-ATPase 的分类

根据功能和位置不同, 植物细胞内的H<sup>+</sup>-ATPase可分为F、P和V三大类型: F型ATPase主要分布在线粒体和叶绿体上; P型ATPase分布在

质膜上; V型ATPase分布在液泡膜、内质网膜、溶酶体、嗜铬颗粒和高尔基体膜上。这三类ATPase的专性抑制剂分别是: 抑制F型ATPase的寡霉素或NaN<sub>3</sub>、抑制P型ATPase的Na<sub>2</sub>VO<sub>4</sub>和抑制V型ATPase的Bafilomycin或KNO<sub>3</sub><sup>[2]</sup>。本文主要介绍的是位于质膜上的H<sup>+</sup>-ATPase。

### 2 质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的结构

质膜H<sup>+</sup>-ATPase以两个催化亚基的二聚体形式存在, 其分子量约为100 kD。其中, 单个催化亚基有水解ATP的活性。质膜H<sup>+</sup>-ATPase有10个跨膜区域, 通过外表面非极性氨基酸残基插于磷脂膜中, 形成α螺旋。亲水区域在质膜内侧, 能与作用底物结合。质膜H<sup>+</sup>-ATPase有磷酸酶结构域、转导

收稿日期: 2005-08-17 接受日期: 2006-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30100110/30471040); 广东省自然科学基金项目(000642); 国际科学基金项目(C/3042-2)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

结构域和蛋白激酶结构域三个区域,其 N 末端位于膜内侧,是质子入口;C 末端的 6 个  $\alpha$  螺旋构成的环状质子通道,是自抑制区,调控酶活性<sup>[9]</sup>。质膜  $H^+$ -ATPase 的两种构象  $E_1$  和  $E_2$  可以相互转变, $E_1$  结构比  $E_2$  松散。 $E_1$  的蛋白激酶与阳离子(如  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) 结合后被激活形成  $E_1P \cdot H_3O^+$  复合物;反之,由构型  $E_1$  变为  $E_2$  时,蛋白激酶失活,磷酸酶结构域被活化,对  $H_3O^+$  的亲合力变小, $H^+$  被运到细胞外<sup>[9]</sup>。

### 3 质膜 $H^+$ -ATPase 的性质

植物细胞质膜  $H^+$ -ATPase 属于 P 型 ATPase,在催化过程中有磷酸化中间产物,其活性依赖于介质阳离子的浓度,如  $Mg^{2+}$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  等。质膜  $H^+$ -ATPase 在植物细胞生长发育及抗逆过程中具有重要生理功能<sup>[9]</sup>。(1) 质膜  $H^+$ -ATPase 能水解 ATP,产生能量,并把细胞质内的  $H^+$  泵出膜外,产生跨膜 pH 梯度和电势梯度,形成质子电化学势  $\Delta pH$ ,提供细胞生长所需的驱动力。 $\Delta pH$  可驱动质膜次级共转运系统,激活质膜上其它离子通道,促进离子和中性溶质如糖、氨基酸等随  $H^+$  进入细胞, $Na^+$  与  $H^+$  偶联反向运出细胞;(2) 质膜  $H^+$ -ATPase 参与生长调节作用。生长素可激活质膜  $H^+$ -ATPase,使细胞向外分泌的  $H^+$  量增加,细胞壁酸化,使细胞壁纤维素微纤丝的交联松弛,细胞壁伸展性增加,从而促进细胞的伸长生长;(3) 质膜  $H^+$ -ATPase 可调节细胞内的 pH 变化,参与解除种子休眠的过程;(4) 保卫细胞质膜  $H^+$ -ATPase 建立的  $\Delta pH$  能驱动  $K^+$ 、 $Cl^-$  和苹果酸进入原生质,诱导保卫细胞膨压的变化,从而调节气孔开闭;(5) 质膜  $H^+$ -ATPase 参与植物的极性生长过程。植物根、根毛和花粉管等器官的极性生长与其细胞质膜  $H^+$ -ATPase 上的空间分布有关。质子泵分布多、活性高,则  $H^+$  分泌量增多,细胞壁松弛度增大,从而加速生长速度。

## 4 质膜 $H^+$ -ATPase 调节的分子机制

### 4.1 质膜 $H^+$ -ATPase 的遗传背景

植物质膜  $H^+$ -ATPase 是由一个多基因家族编码的酶类。植物的质膜  $H^+$ -ATPase 大多都由两个或两个以上的基因所编码。这个家族不同成员的表达具有组织或器官特异性。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 质膜  $H^+$ -ATPase 由 11 个基因成员编码,其

中 *AHA3* 是花粉形成所必需的,剔除 *AHA3* 基因,拟南芥花粉的发育不能完成。激活质膜  $H^+$ -ATPase 需要苏氨酸的氧化磷酸化,以调节其自催化<sup>[9]</sup>。

### 4.2 质膜 $H^+$ -ATPase 活性的调节

质膜  $H^+$ -ATPase 活性的调节有 3 种方式:C-末端的自体抑制、蛋白激酶域活性调节、氧化磷酸化。介质 ATP 充足时,蛋白激酶如胰蛋白激酶或胰凝乳蛋白激酶能降解质膜  $H^+$ -ATPase,释放出一条分子量为 7 kD 的片段,提高质膜  $H^+$ -ATPase 活性<sup>[7]</sup>。有研究表明<sup>[9]</sup>,丁香素能通过蛋白磷酸化调节甜菜 (Sugar Beet) 的质膜  $H^+$ -ATPase 活性。植物激素如 IAA、CKT 和油菜内酯等也能通过影响蛋白激酶或磷酸酶的氧化磷酸化或去磷酸化,从而调节质膜  $H^+$ -ATPase 的活性。

### 4.3 质膜 $H^+$ -ATPase 的转录、翻译及翻译后的调节

在转录水平上,质膜  $H^+$ -ATPase 参与了植物生长发育过程中多种胁迫反应。在盐胁迫条件下,抗盐品种较敏感性品种累积较多的 mRNA,高量累积 mRNA 可能参与作物的抗盐性<sup>[8,9]</sup>。对烟草 (*Nicotiana tabacum*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的质膜  $H^+$ -ATPase 进行转录分析 (Northern-blotting analysis) 表明,植物不同品种、不同器官质膜  $H^+$ -ATPase 基因表达模式不同,有些基因需要内源激素的作用才能表达;而另一些基因需要借助一些小分子 RNA (如 MicroRNA 和 small RNA) 的剪切,才表现出活性。运用报告基因和原位杂交技术的研究表明,拟南芥质膜  $H^+$ -ATPase 基因的不同拷贝的表达具有组织特异性<sup>[10]</sup>,其中编码拟南芥质膜  $H^+$ -ATPase 的基因 *AHA2* 在根毛中特异表达;*AHA3* 在韧皮部中高量表达;*AHA10* 主要在发育中的种子中表达。编码烟草质膜  $H^+$ -ATPase 的基因 *PMA4* 主要分布在根表皮细胞、根毛及保卫细胞中,激活矿物质和糖分向韧皮部和气孔运输。在发育的苹果 (*Malus domestica*) 中,质膜  $H^+$ -ATPase 参与了韧皮部同化物的卸载<sup>[11]</sup>。质膜  $H^+$ -ATPase 的表达主要在根表皮、中柱细胞、韧皮部细胞、芽分生组织、绒毡层、花粉管等细胞中。一般而言,质膜  $H^+$ -ATPase 高量表达常限于那些溶质或代谢物跨膜运输比较活跃的细胞中。盐胁迫能诱导烟草皮层节点 *PMA1*、*PMA4*、*PMA5*、*PMA6* 的增强表达<sup>[12]</sup>。在质膜  $H^+$ -ATPase 基因的 5' 端非编码区有一个开放阅读框

架,它能调节质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的翻译过程。然而,有关质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 在翻译水平上表达的生理意义和精细调控作用还不清楚。质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 还能通过翻译后进行修饰,调节其活性。质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的 C 末端有一个自体抑制区域,除去它可增强活性, Km 下降,最适 pH 值上升<sup>[2]</sup>。14-3-3 蛋白能与质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 直接作用,诱导其 C 末端发生位移;壳梭孢素 (Fusicoccin) 能稳定质膜 H<sup>+</sup>-ATPase/14-3-3 蛋白复合物,提高质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性<sup>[13]</sup>。

## 5 质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 与信号传导

质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 对逆境胁迫的应答反应促使人们进一步去了解质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 在植物响应环境胁迫中的作用。在保卫细胞的原生质体中,蓝光能诱导质子泵活性,但脱落酸抑制上述反应。研究发现,脱落酸的抑制效应主要是通过过氧化氢诱导的质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 去磷酸化过程来实现的<sup>[12]</sup>。质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 参与物质信号传递过程有多种途径:质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的同功酶与 14-3-3 蛋白相互作用,实现信号传导<sup>[14]</sup>。在绿豆 (*Phaseolus vulgaris*) 中,茉莉酸甲酯通过调节质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的磷酸化和去磷酸化,影响其水解活性。两种蛋白激酶抑制剂 (staurosporine 和 cheleythrine) 能抑制茉莉酸甲酯诱导的激活效应,共同调节质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 信号传导过程<sup>[15]</sup>。

在拟南芥悬浮细胞中,ABA 能激活阴离子通道,调节细胞液 Ca<sup>2+</sup> 浓度,从而抑制质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的活性,迅速诱导质膜的去极化<sup>[16]</sup>。大量证据表明,在生长素诱导细胞伸长和器官生长的信号传递链中,质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 是生长素作用的最终靶物。在拟南芥质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 泵出质子过程中,位于 AHA2 基因编码的跨膜区域 Asp684 被认为是质子转移的必要受体。相信随着人们对信号传递线性链的深入研究,质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 在环境信号传导中的作用将越来越引起人们的高度关注。

## 6 质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 与环境胁迫

环境胁迫条件既能诱导质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的高量表达,也能抑制其表达。而质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的表达变化又会调节植物对逆境胁迫的适应能力。最近研究发现,质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 在拟南芥种子包衣内皮

的原花色素苷形成过程中具有重要作用,在拟南芥质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 基因成员中, AHA10 基因主要在发育的种子中表达, AHA10 编码的质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 调节了上述反应<sup>[17]</sup>。

### 6.1 养分胁迫

在黄化玉米 (*Zea mays* L.) 根中,硝态氮的供应增加了根系质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性,进一步分析其基因 (*MHA1* 和 *MHA2*) 的表达发现, *MHA1* 并不表达,而 *MHA2* 在玉米所有器官或组织均有表达,但不在其杂交后代中表达。增加表达 (*MHA3* 和 *MHA4*) 导致高水平的酶量和 ATP 水解活性。硝酸盐高量吸收可能诱导了信号传递系统,有利于质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 第 II 亚家族两个成员 (*MHA3* 和 *MHA4*) 的高量表达<sup>[18]</sup>。缺磷能诱导白羽扇豆 (*Lupinus albus*) 根中的质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 浓度、水解活性、质子泵出活性、跨膜质子梯度、以及 V<sub>max</sub> 和 Km 增加<sup>[19]</sup>。以耐 Al 玉米为材料的研究表明,氟铝石处理抑制了根系磷吸收和质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性,动力学研究表明, AlF(x) (fluoroaluminate) 对磷转运子具有竞争性抑制作用<sup>[20]</sup>。植物吸收钾通过专性通道调节,其吸收过程与质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性关系密切<sup>[21]</sup>,在大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 胚乳细胞中,脱落酸和 14-3-3 蛋白对钾离子通道活性的影响,主要是通过直接激活质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 来调节<sup>[22]</sup>。铁胁迫 (FeSO<sub>4</sub> 和 FeCl<sub>3</sub>) 抑制小麦根系质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性,铁诱导产生的自由基和硫醇过氧化介导了质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性下降的调节过程<sup>[23]</sup>。在黄瓜 (*Cucumis sativus*) 中,缺铁能诱导质子分泌,导致根际酸化,提高质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性,进一步表明缺铁能增加质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的高水平表达稳定性<sup>[24]</sup>。而且,两个质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 基因 *CsHA1* 和 *CsHA2* 对缺铁的反应呈现不同变化,缺铁能诱导 *CsHA1* 基因在根系中表达,而叶片中没有表达,供铁降低其在根系中的表达;而 *CsHA2* 在叶片和根系中的表达均不受铁营养水平的影响<sup>[25]</sup>。Ahn 等<sup>[26]</sup>的研究表明,在双子叶的南瓜 (*Cucurbita pepo*) 中,铝抑制质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的活性,降低膜的负电势,这种现象在根尖 (2-3 mm) 的区域特别明显,且耐性品种能维持较高的活性。在胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 突变体细胞中,质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 调节着有机酸阴离子的分泌过程<sup>[27]</sup>。在拟南芥叶绿体铜的运输过程中,质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的两

个基因 *PAA1*、*PAA2* 参与了调节过程,且 *PAA1* 主要在叶绿体边缘细胞中表达;而 *PAA2* 则在膜上表达<sup>[28]</sup>。近年来,Shen 等的研究表明,质膜  $H^+$ -ATPase 的上游变化(转录、翻译及氧化磷酸化)参与了铝诱导大豆(*Glycine max*)柠檬酸分泌的调节过程<sup>[29]</sup>。质膜  $H^+$ -ATPase 在磷的吸收过程中也扮演了重要角色。低磷条件下,用质膜  $H^+$ -ATPase 的激活剂 fusicoccin 或抑制剂 vanadate 处理后,大豆根尖磷的吸收则明显提高或降低,转基因(*AHA1*)的拟南芥在低磷条件下与野生型相比能吸收更多的磷<sup>[30]</sup>。

## 6.2 水分胁迫

轻度水分胁迫下小麦根和叶片中质膜  $H^+$ -ATPase 分解活性明显升高;而重度缺水时,小麦根系膜脂物理性质改变,质膜  $H^+$ -ATPase 活性下降<sup>[31]</sup>。但抗性品种能维持较高的活性。这可能是抗性品种保证了 ATP 的合成、减少 ATP 的分解,在一定水平上保证了细胞的渗透压。在水分胁迫下,质膜  $H^+$ -ATPase 活性变化是植物适应水分胁迫的重要指标之一。

## 6.3 冷害胁迫

遭受冷害或冻害胁迫时,质膜是植物受冻害的最初损伤部位<sup>[32-33]</sup>。轻度冷害时,茄(*Solanum melongena*)叶质膜  $H^+$ -ATPase 活性增加 2 倍,  $K_m$  值下降;但严重冷害时,会导致质膜  $H^+$ -ATPase 活性和  $K_m$  下降。Hellergren 等<sup>[7]</sup>发现,冰冻胁迫也会使松树(*Pinus sylvestris*)针叶质膜  $H^+$ -ATPase 活性明显升高。而在 Lee 等<sup>[34]</sup>的低温胁迫研究中发现,水分运输能力的降低和  $H^+$ -ATPase 的活性的降低有关。低温会导致质膜过氧化氢的累积,而  $H^+$ -ATPase 的活性对过氧化氢非常敏感,使  $H^+$ -ATPase 的活性受到抑制,细胞间液流传导速度降低,从而降低水分运输<sup>[34]</sup>。低温还能诱导甜菜根系质膜  $H^+$ -ATPase 的  $K_m$  和  $V_m$  值增加<sup>[35]</sup>。

## 6.4 病虫害胁迫

在西红柿抗病研究中,用质膜  $H^+$ -ATPase 的抑制剂如: erythrosin B, diethyl stilbestrol, 和 vanadate 处理,能碱化秘鲁番茄(*Lycopersicon peruvianum*)细胞培养液,而激活剂使介质酸化。研究表明,质膜  $H^+$ -ATPase 的可逆磷酸化参与了伤害诱导的基因反应过程<sup>[36]</sup>。在 *Nicotiana plumbaginifolia* 培养细胞中,

用香脂苏醇(sclareol)处理,一条与质膜  $H^+$ -ATPase 结合的转运子参与了一种抗真菌萜类化合物分泌的调节过程<sup>[37]</sup>。在植物抗真菌病原体反应中,蛋白激酶参与了质膜  $H^+$ -ATPase 的可逆磷酸化调节过程<sup>[38]</sup>。在小麦胚发育过程中,质膜  $H^+$ -ATPase 参与了生长素介导的细胞延长<sup>[39]</sup>。

## 6.5 其他作用

除上述作用外,质膜  $H^+$ -ATPase 还参与其它调节作用。拟南芥质膜  $H^+$ -ATPase 是花粉发育所必需的成份。质膜  $H^+$ -ATPase 缺乏或突变发生时,拟南芥花粉的发育过程就不能完成<sup>[40]</sup>。低盐能促进车前(*Plantago asiatica*)根质膜  $H^+$ -ATPase 活性,而高盐对质膜  $H^+$ -ATPase 活性影响不大。Braun<sup>[41]</sup>的研究表明,盐胁迫能大大提高大洋洲滨藜(*Atriplex nummularia*)质膜  $H^+$ -ATPase 的活力,盐处理增加质子泵活力,产生  $\Delta\mu H^+$ ,加速  $Na^+$  的运输。与盐胁迫相反,重金属元素通过与质膜的相互作用,抑制质膜  $H^+$ -ATPase 的活性<sup>[42]</sup>。

## 7 质膜 $H^+$ -ATPase 研究展望

自从发现植物细胞质膜  $H^+$ -ATPase 以来的二十多年中,对其结构和功能的研究已取得了实质性的进展。然而,质膜  $H^+$ -ATPase 响应逆境胁迫的研究还有很多问题需进一步探讨。质膜  $H^+$ -ATPase 的提取过程比较复杂,提取技术还需要进一步提高,其结构变化与活性的关系以及活性调节机制还需进一步探讨。质膜  $H^+$ -ATPase 在信号传递过程中的作用还不清楚,最终解决植物感受外界信号的机制问题将大大加深人们对植物生长发育过程、生理生化代谢与基因调控等问题的认识。质膜  $H^+$ -ATPase 对环境胁迫的反应的研究,特别是环境胁迫下其活性的改变与信号传导的途径还有待深入研究。质膜  $H^+$ -ATPase 是由多基因编码的蛋白,该酶有许多同工酶,目前还没有专一性很强的单克隆抗体来检测不同基因在特定部位的蛋白表达情况。同时,这些编码质膜  $H^+$ -ATPase 的基因在某一环境胁迫下所起的作用并不是一致的。利用分子生物学手段作基因表达分析,找出功能基因,并将其转化到植物中使其过量表达,可以作为提高植物的抗逆性的一种手段。

## 参考文献

- [1] Hodges T K, Leonard R T, Bracker C E, et al. Purification of an ion-stimulated ATPase from plant root: association with plasma membrane [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1972, 69:3307-3311.
- [2] Briskin D P. The plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase of higher plant cells: biochemistry and transport function [J]. Biochim Biophys Acta, 1990, 1019:95-109.
- [3] Palmgren M G. Regulation of plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity [J]. Physiol Plant, 1991, 83:314-323.
- [4] Serrano R. Structure and function of proton translocating ATPase in plasma membranes of plants and fungi [J]. Biochim Biophys Acta, 1988, 947:1-28.
- [5] Morsomme P, Boutry M. The plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase: structure, function and regulation [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1465:1-16.
- [6] Robertson W R, Clark K, Young J C, et al. An *Arabidopsis thaliana* plasma membrane proton pump is essential for pollen development [J]. Genetics, 2004, 168:1677-1687.
- [7] Hellergren T, Widell S, Lundborg T, et al. Plant Cold Hardiness [M]. New York: Alan R Less Inc, 1987. 211-234.
- [8] Niu X, Narasimhan M L, Salzman R A, et al. NaCl regulation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression in a glycophyte and a halophyte [J]. Plant Physiol, 1993, 103:713-718.
- [9] Niu X, Damsz B, Kononowicz A K, et al. NaCl-induced alterations in both cell structure and tissue-specific plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression [J]. Plant Physiol, 1996, 111:679-686.
- [10] Sussman M R. Molecular analysis of proteins in the plant plasma membrane [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1994, 45 (1):211-234.
- [11] Zhang X, Wang H, Takemiya A, et al. Inhibition of blue light-dependent H<sup>+</sup> pumping by abscisic acid through hydrogen peroxide-induced dephosphorylation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in guard cell protoplasts [J]. Plant Physiol, 2004, 136 (4):4150-4158.
- [12] Mito N, Wimmers L E, Bennett A B. Sugar regulates mRNA abundance of H<sup>+</sup>-ATPase gene family members in tomato [J]. Plant Physiol, 1990, 94(3):722-728.
- [13] Finnie C, Borch J, Collinge D B. 14-3-3 proteins: eukaryotic regulatory proteins with many functions [J]. Plant Mol Biol, 1999, 40:545-554.
- [14] Alsterfjord M, Sehnke P C, Arkell A, et al. Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase and 14-3-3 isoforms of *Arabidopsis* leaves: evidence for isoform specificity in the 14-3-3/H<sup>+</sup>-ATPase interaction [J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45(9):1202-1210.
- [15] Wen B(文彬), Bin J H(宾金华), Wang X J(王小菁). Effects of methyl jasmonate treatment on the hydrolytic activity and phosphorylation level of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in mung bean (*Vigna radiata* L.) hypocotyls [J]. J Plant Physiol Mol Biol(植物生理与分子生物学学报), 2004, 30(6):665-670.(in Chinese)
- [16] Brault M, Amiar Z, Pennarun A M, et al. Plasma membrane depolarization induced by abscisic acid in *Arabidopsis* suspension cells involves reduction of proton pumping in addition to anion channel activation, which are both Ca<sup>2+</sup> dependent [J]. Plant Physiol, 2004, 135(1):231-243.
- [17] Barter I R, Young J C, Armstrong G, et al. A plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase is required for the formation of proanthocyanidins in the seed coat endothelium of *Arabidopsis thaliana* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, (10):5635-5641.
- [18] Santi S, Geraldine L, Rossella M, et al. Induction of nitrate uptake in maize roots: expression of a putative high-affinity nitrate transporter and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase isoforms [J]. J Exp Bot, 2003, (389):1851-1864.
- [19] Yan F, Zhu Y Y, Muller C, et al. Adaptation of H<sup>+</sup>-pumping and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in proteoid roots of white lupin under phosphate deficiency [J]. Plant Physiol, 2002, 129:50-63.
- [20] Facanha A R, Okorokova-Facanha A L. Inhibition of phosphate uptake in corn roots by aluminum-fluoride complexes [J]. Plant Physiol, 2002, 129(4):1763-1772.
- [21] Hoth S, Dreyer I, Dietrich P, et al. Molecular basis of plant-specific acid activation of K<sup>+</sup> uptake channels [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94:4806-4810.
- [22] Wijngaard P W, Sinnige M P, Roobeek I, et al. Abscisic acid and 14-3-3 proteins control K channel activity in barley embryonic root [J]. Plant J, 2005, 41(1):43-55.
- [23] Meijer H J, Terriet B, Vanhimbergen J A, et al. KCl activates phospholipase D at two different concentration ranges: distinguishing between hyperosmotic stress and membrane depolarization [J]. Plant J, 2002, 31(1):51-59.
- [24] Dell'orto M, Santi S, Nisip D E, et al. Development of Fe-deficiency responses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) roots: involvement of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity [J]. J Exp Bot, 2000, 51(345):695-701.
- [25] Santi S, Cesco S, Varanini Z, et al. Two plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase genes are differentially expressed in iron-deficient cucumber plants [J]. Plant Physiol Biochem, 2005, 43:288-292.
- [26] Ahn S J, Sivaguru M, Osawa H, et al. Aluminum inhibits the H<sup>+</sup>-ATPase activity by permanently altering the plasma membrane surface potentials in squash roots [J]. Plant Physiol, 2001, 126(4):1381-1390.
- [27] Ohno T, Koyama H, Hara T. Characterization of citrate transport through the plasma membrane in a carrot mutant cell line with enhanced citrate excretion [J]. Plant Cell Physiol, 2003, 44:156-162.
- [28] Abdel-Ghany S E, Muller-Moule P, Niyogik K, et al. Two P-type ATPases are required for copper delivery in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts [J]. Plant Cell, 2005, 17:1233-1251.
- [29] Shen H, He L F, Sasaki T, et al. Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. Up-regulation of transcription, translation, and threonine-oriented

- phosphorylation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138:287–296.
- [30] Shen H, Chen J H, Wang Z Y, et al. Root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase is involved in the adaptation of soybean to phosphorus starvation [J]. *J Exp Bot*, 2006, 57:1353–1362.
- [31] Qiu Q S(邱全胜). Influence of osmotic stress on the lipid physical states of plasma membranes from wheat roots [J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, 1999, 41(2): 161-165.(in Chinese)
- [32] Lyons J M, Raisonand J K, Steponkus P L. The plant membrane in response to low temperature: an overview [A]. In: Lyons J M. *Low Temperature Stress in Crop Plants* [M]. New York: Academic Press, 1979. 1–24.
- [33] Pala J P, Li P H. Cell membrane properties in relation to freezing injury [A]. In: Li P H, Sakai S. *Plant Cold and Hardiness and Freezing Stress* [M]. New York: Academic Press, 1978. 93–115.
- [34] Lee S H, Singh A P, Chung G C. Rapid accumulation of hydrogen peroxide in cucumber roots due to exposure to low temperature appears to mediate decreases in water transport [J]. *J Exp Bot*, 2004, 55(403):1733–1741.
- [35] Lindberg S, Baras A, Stymne S. Effect of different cultivation temperatures on plasma membrane ATPase activity and lipid composition of sugar beet roots [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2005, 43:261–268.
- [36] Schaller A, Oecking C. Modulation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity differentially activates wound and pathogen defense responses in tomato plants [J]. *Plant Cell*, 1999, 11:263–272.
- [37] Jasinski M, Stukkens Y, Degand H, et al. A plant plasma membrane ATP binding cassette-type transporter is involved in antifungal terpenoid secretion [J]. *Plant Cell*, 2001, 13:1095–1107.
- [38] Xing T, Higgins V J, Blumwald E. Regulation of plant defense response to fungal pathogens: two types of protein kinases in the reversible phosphorylation of the host plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase [J]. *Plant Cell*, 1996, 8:555–564.
- [39] Roberts M R. 14-3-3 proteins find new partners in plant cell signaling [J]. *Trends Plant Sci*, 2003, 8(5):218–231.
- [40] Robertson W R, Clark K, Young J C, et al. An *Arabidopsis thaliana* plasma membrane proton pump is essential for pollen development [J]. *Genetics*, 2004, 8(3):1677–1687.
- [41] Braun Y, Hassidim M, Lerner H R, et al. Studies on H<sup>+</sup>-translating ATPase in plants of varying resistance to salinity [J]. *Plant Physiol*, 1986, 81:1250–1256.
- [42] Astolfi S, Zuchi S, Chiani A, et al. *In vivo* and *in vitro* effects of calcium on H<sup>+</sup>-ATPase activity of plasma membrane vesicles from oat roots [J]. *J Plant Physiol*, 2003, 160:387–393.