

木麻黄幼苗小枝质膜离子泵活性对酸雨的响应

李裕红^{1,2}, 严重玲^{1*}

(1. 厦门大学生命科学学院, 2. 近海海洋环境科学国家重点实验室(厦门大学), 福建 厦门 361005)

摘要: 对模拟 pH 4.5 ~ 2.5 酸雨胁迫 3 个月后木麻黄幼苗小枝质膜离子泵活性测定结果表明, 木麻黄幼苗嫩枝质膜 H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 对酸雨非常敏感, 常随酸雨强度的加大其活性受愈来愈强的抑制。pH 4.5 ~ 2.5 酸雨处理使质膜 H⁺-ATPase 活性被抑制 76.64% ~ 85.88%, 而 Ca²⁺-ATPase 活性仅为对照的 14.12% ~ 4.7%。在 pH 3.0 酸雨处理组, 质膜 H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性均出现反弹升高。酸雨对质膜 H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性所产生的相似作用, 体现出质膜 H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 对酸雨胁迫信号具有某种程度上相同的活性响应调节机制。

关键词: 木麻黄; 质膜 H⁺-ATPase; 质膜 Ca²⁺-ATPase; 酸雨

中图分类号: X 171

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2006)01-0131-05

酸雨被喻为“空中死神”, 严重影响生物生存和人体健康, 已成为重要的国际环境问题。我国酸雨的主要致酸物质是燃煤排放的 SO₂, 又称煤烟型酸雨或硫酸型酸雨。由于我国硫酸型酸雨的发展与能源消费带来的酸雨前体物排放量的增长存在着正相关, 酸雨问题日趋严重。我国酸雨区主要位于长江以南。酸雨是我国东南沿海地区林业发展所面临的重要环境问题之一, 木麻黄防护林是东南沿海最重要的防风固沙林, 在改善当地生态环境和促进经济发展上发挥了难以取代的作用。酸雨是影响当前木麻黄林更新困难的重要因素之一。

质膜是植物细胞抵御外界胁迫的第一道屏障, 严格而有序地控制着细胞与外界环境之间的物质、能量和信息交换。植物细胞对许多无机离子和有机溶质的吸放主要靠主动运输来完成。质子泵活动所产生的跨膜质子电化学势是其它次级运输的驱动力, 钙泵对维持钙的第二信使功能具有重要作用等等, 均显示质子泵和钙泵作为重要的膜转运系统成员在膜功能研究上的重要性。酸雨作为当前全球环境中广为存在的非生物逆境因子, 其对植物体的伤害从细胞水平来说首先要作用于质膜并通过质膜进行传递。本试验研究了酸雨胁迫下木麻黄幼苗小枝质膜离子泵活性对酸雨的响应, 为明确酸雨胁迫下木麻黄幼苗离子泵的变化机理及其与木麻黄抗逆性的关系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

试验在厦门大学植物园玻璃温室内进行。供试普通木麻黄 (*Casuarina equisetifolia*) 为福建泉州惠安赤湖林场木麻黄种苗生产基地提供的扦插 3 个月的营养钵小苗。将扦插苗移入直径 25 cm 的陶盆中, 每盆装本地园土 5 kg (土壤 pH: 6.46; EC: 1.10 ds/m; 全 N: 0.111%; 全 P: 0.088%; 全 K: 2.320%; Na⁺: 0.010%; Cl⁻: 0.009%), 经室内适应性栽培 4 个月后进行酸雨胁迫处理。酸雨设 pH 4.5、4.0、3.5、3.0、2.5 5 组酸度处理, 以自来水 (pH 6.5) 作为对照, 每盆种 3 株木麻黄, 每个处理组 10 盆重复。酸雨中离子成分模拟自然降雨中各离子浓度比, 具体参照严重玲方法^[1], 用稀硫酸配制, 酸雨的 pH 值用精密 pH 计准确调整, 隔 5 d 均匀喷洒 1 次, 每次每盆喷施酸雨 2 L, 酸雨处理 3 个月后即采摘木麻黄幼苗小枝作为试验材料。

1.2 试验测定

木麻黄幼苗小枝质膜微囊的分离纯化参考 Zheng H L^[2] 等方法, 50 g 幼嫩小枝经匀浆过滤后, 通过差速冷冻离心获得微粒体膜制剂, 然后用水双相分配分离法获得纯化质膜制剂。纯膜制剂立即使用或置于超低温冰箱 -70 保存待用。

PM H⁺-ATPase 活性测定参照章文华^[3] 方法: 0.5 mL 反应体系中含 MgSO₄ 3 mmol/L, K₂SO₄ 25 mmol/L, Triton X-100 0.02% (体积分数), Tris-Mes 50 mmol/L, pH 6.5, ATP-Na₂ 3 mmol/L, 加膜制剂 20 μL, 37 保温 30 min, 加入 20% (mg/mL) TCA 200 μL 终止反应, 测定无机磷的释放量, 酶活性即用 ATP

收稿日期: 2005-03-15

基金项目: 福建省青年科技人才创新项目 (2004J053), 福建教育厅资助项目 (JA02251)

作者简介: 李裕红 (1969 -), 女, 博士后, 副教授。

* 通讯作者: ycl@xmu.edu.cn

酶解产生的无机磷计算. PM Ca^{2+} -ATPase 活性测定参考李新民^[4]方法:1.1 mL 反应体系中含 10 mmol/L 咪唑, MgCl₂ 5 mmol/L, CaCl₂ 50 μmol/L, ATP-Na₂ 3 mmol/L, pH 7.0, 加入 20 μL 膜制剂, 酶反应步骤与 PM H^{+} -ATPase 活性测定方法相同. 无机磷的测定参照 Ohnishi^[5]方法; 膜蛋白含量的测定按 Bradford^[6], 用考马斯亮蓝 G-250 显色法测定. 以上实验均作 6 次重复测定. 实验数据的多重方差分析运用 SPSS Duncan 程序.

2 结果与分析

2.1 木麻黄幼苗小枝质膜 H^{+} -ATPase 活性对酸雨的响应

研究表明木麻黄质膜 H^{+} -ATPase 对酸雨非常敏感(表 1). 与无酸雨处理的对照组相比, 在经过 3 个月的酸雨胁迫培养后, 除 pH 3.0 处理组外, 其它酸雨处理组的木麻黄幼苗小枝质膜 H^{+} -ATPase 活性受酸雨强烈抑制, 抑制程度达 76.64% ~ 85.88%, 方差分析表明其活性均极显著低于对照组. pH 4.5 时活性比对照低 76.64%, pH 2.5 时活性最受抑制, 仅是对照组活性的 14.12%. 其中 pH 4.5 处理分别与 pH 4.0、pH 3.5 及 pH 2.5 三种之间均存在极显著差异, 而 pH 4.0、pH 3.5、pH 2.5 处理之间无显著差异. 至于 pH 3.0 处理组, 质膜 H^{+} -ATPase 活性出现了异常的反弹升高,

其活性极显著高于其它处理组, 比对照组 H^{+} -ATPase 活性高出 175.32%. 这种现象的产生可能是木麻黄-盆土体系经一定强度和一定时间的酸雨累积胁迫后, 在木麻黄质膜 H^{+} -ATPase 上体现出的一种显著的抗逆性应激反应. 具体机理尚待进一步研究.

2.2 木麻黄幼苗小枝质膜 Ca^{2+} -ATPase 活性对酸雨的响应

从表 2 可见, 木麻黄幼苗细胞质膜 Ca^{2+} -ATPase 对酸雨亦非常敏感, 其活性对系列酸度模拟酸雨的响应方式与质子泵相似. 除 pH 3.0 处理组外, 其它酸雨处理组的木麻黄幼苗小枝质膜 Ca^{2+} -ATPase 活性受酸雨强烈抑制, 而且随酸度的加大受抑制的程度愈来愈大, 其活性均极显著低于无酸雨胁迫的对照处理组活性. 酸雨 pH 值为 4.5 时, Ca^{2+} -ATPase 活性是对照组的 24.12%, 至 pH 2.5 时活性仅有对照组的 4.7%. 木麻黄幼苗在受 pH 3.0 酸雨处理 3 个月后, 相比于其它酸雨胁迫组, 其质膜 Ca^{2+} -ATPase 活性表现出反弹升高, 其活性提升至 CK 的 191%, 与对照有极显著差异. 当酸雨作用于木麻黄幼苗时, 细胞质膜是原初受害部位, 位于质膜上的 H^{+} -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性首先对酸雨信号做出极敏感的响应. 酸雨对二者活性所产生的相似作用(表 1, 表 2), 可能体现出质膜 H^{+} -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 对酸雨胁迫信号具有某种程度上相同的活性响应调节机制.

表 1 酸雨对木麻黄幼苗小枝质膜 H^{+} -ATPase 活性的影响

Tab. 1 Effects of acid rain on plasma membrane H^{+} -ATPase activity of *Casuarina equisetifolia* seedling twigs

	不同 pH 值模拟酸雨处理					
	CK	pH 4.5	pH 4.0	pH 3.5	pH 3.0	pH 2.5
H^{+} -ATPase 活性 ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	272.08	63.56	45.97	41.32	749.10	38.41
多重比较	Bb	Cc	Dd	Dd	Aa	Dd

注:多重比较结果中小写字母表示 95%显著水平,大写字母表示 99%显著水平.

表 2 酸雨对木麻黄幼苗小枝质膜 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

Tab. 2 Effects of acid rain on plasma membrane Ca^{2+} -ATPase activity of *Casuarina equisetifolia* seedling twigs

	不同 pH 值模拟酸雨处理					
	CK	pH 4.5	pH 4.0	pH 3.5	pH 3.0	pH 2.5
Ca^{2+} -ATPase 活性 ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	219.94	53.07	33.17	28.33	420.71	10.36
多重比较	Bb	CDC	CDd	Dd	Aa	Ce

注:多重比较结果中小写字母表示 95%显著水平,大写字母表示 99%显著水平.

3 讨 论

酸雨对植物细胞的生理刺激和伤害首先要作用于质膜并通过质膜进行传递,跨膜功能蛋白 PM H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 在转变构象完成细胞对无机离子和有机溶质的吸收运输任务之时,也势必接受并传递酸雨信号的作用,进而影响细胞内部的生理生化过程.研究表明木麻黄幼苗小枝 PM H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 对酸雨非常敏感,一般都随酸雨强度的加大其活性受愈来愈强的抑制,pH2.5 酸雨胁迫 3 个月后,PM H^+ -ATPase 活性只有 CK 活性的 14.12%,而 PM Ca^{2+} -ATPase 活性仅是 CK 活性的 4.7%,特殊情况是 pH3.0 酸雨胁迫组的木麻黄幼苗小枝 PM H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性都出现异常升高现象,可能是木麻黄-土壤体系在经过一定强度和一定时间的酸雨胁迫累积后,在 PM H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 上体现出的抗逆性应激适应表现.离子泵作为质膜功能蛋白的重要组成,在对逆境应答过程中有着重要地位.Hodges^[7]研究表明离子泵活性受离子强度影响.酸雨中 H^+ 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 等酸性离子和碱性离子随 3 个月的浇灌行为作用于木麻黄土壤盆土体系,已经干扰了木麻黄的正常培育生长,严重抑制离子泵活性,势必导致细胞对离子及有机溶质的吸收运输等功能受阻,植物体物质代谢等生理活动受干扰.PM H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性对酸雨胁迫具有相似的响应方式,在一定意义上反映 PM H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 对酸雨信号的响应具有相似的调节机制.关于离子泵活性调节的机理目前尚不清楚,这是当前植物生理学研究的热点问题之一.

目前对胁迫处理后 PM H^+ -ATPase 活性变化规律的问题很难得到统一结论.PM H^+ -ATPase 活性因不同材料、不同生长部位、不同胁迫处理方法和程度而活性变化情况差异很大.主要有两种结论,一是胁迫后 PM H^+ -ATPase 活性下降,二是胁迫后 PM H^+ -ATPase 活性上升.逆境导致 PM H^+ -ATPase 活性变化的原因很复杂.如 Schaller^[8]研究所言:凡是影响细胞质 Ca^{2+} 含量和 pH 的因子都可能通过影响蛋白激酶的活性间接影响质膜 H^+ -ATPase 的磷酸化及其活性.中国的酸雨属硫酸型酸雨,硫酸根在植物细胞质膜上的转运受 H^+ -ATPase 向外排出一个质子产生的电化学势梯度所驱动,硫酸根转运蛋白将一个硫酸根离子协同三个质子主动共转运进入细胞内,结果硫酸根离子的进入使双倍的质子流入胞内,由此导致胞质 pH 值下降(细胞质 pH 值通常稳定在 7.3~7.5)^[9].

Ca^{2+} 和 H^+ 均是酸雨的主要离子组成,随着一段时期的酸雨输入后,木麻黄小枝细胞质的 Ca^{2+} 含量和 pH 均会受到影响,从而通过影响木麻黄细胞蛋白激酶的活性间接影响了质膜 H^+ -ATPase 的磷酸化及其活性.又如 Kunihiko^[10]研究认为:脂类双分子层组成的变化可能影响 H^+ -ATPase 的 K_m 、活化能和转换数.Yan 等^[11]曾研究认为酸雨会使膜脂发生过氧化等致伤行为,酸雨胁迫使细胞膜膜脂的结构和功能受到影响.由 David 等^[12]的有关脂类调节 PM H^+ -ATPase 活性的假说可推测,由酸雨导致的膜脂变化改变了膜的流动性,从而引起 PM H^+ -ATPase 的构象和活性变化;或 H^+ -ATPase 分子中结合在环形部位的磷脂分子脂肪酸长链与非环形部位相互作用,改变了质膜 H^+ -ATPase 疏水基团的构象,从而影响 H^+ -ATPase 活性.质膜质子泵是植物生命活动的“主宰酶”,对植物细胞营养物质的吸收、细胞生长、气孔运动、细胞内 pH 调节、渗透调节等生理过程有重要调控作用,酸雨可能通过影响 PM H^+ -ATPase 的构象和活性将伤害信号放大作用于植物细胞的生理代谢过程.

因不同植物对象、不同作用器官以及不同胁迫类型和强度等,胁迫处理后 PM Ca^{2+} -ATPase 的活性升降变化规律亦无统一结论.分析酸雨导致 PM Ca^{2+} -ATPase 活性变化的原因,除了相似于酸雨导致 PM H^+ -ATPase 活性变化的原因,如酸雨可以通过影响相应的蛋白激酶和膜脂组成等导致 PM Ca^{2+} -ATPase 构象和活性的改变.由于植物细胞质膜 Ca^{2+} -ATPase 和 H^+ -ATPase 一样属于 P 型 ATPase 家族,都能利用水解 ATP 获得能量或质子电化学势能,催化阳离子逆浓度梯度转运,并同时生成磷酸化中间产物,但除 ATP 外,PM Ca^{2+} -ATPase 还能以 GTP 或 ITP 为水解底物.因此,酸雨还可以通过影响 GTP 或 ITP 达到对 PM Ca^{2+} -ATPase 活性的影响.如酸雨诱发活性氧,影响了 Ca^{2+} -ATPase 的硫氧基,降低该酶对这些底物的亲和力,从而降低 Ca^{2+} -ATPase 活性.伴随着 Ca^{2+} -ATPase 对 Ca^{2+} 的绑定与释放,其跨膜螺旋发生很大的重新排列,横穿于质膜磷脂双分子层结构的 Ca^{2+} -ATPase 有特定的结构域和膜脂规律性联系,因此酸雨对膜脂的伤害势必会干扰 Ca^{2+} -ATPase 正常构象,而使其活性受到抑制.从细胞信号转导方面分析,值得一提的是, Ca^{2+} -ATPase 属于 CaM 结合蛋白的一种,植物细胞质膜 Ca^{2+} -ATPase 的氨基酸序列末端含有 CaM 结合区域,属于自我抑制区域^[13], Ca^{2+} -ATPase 的活性依赖于钙-钙调素(Ca-CaM)复合体和 PKC(钙激活的蛋白激酶)调节.正常情况下,当胞质 Ca^{2+} 浓度升高时,Ca-CaM 激活 Ca^{2+} -ATPase 而增强

其对钙的敏感性和对钙的转运效率。PKC 可使 Ca^{2+} -ATPase 蛋白磷酸化, 进一步提高 Ca^{2+} -ATPase 对钙的转运效率^[14]。酸雨所携带的大量 SO_4^{2-} 、 H^+ 和 Ca^{2+} 等酸碱离子可以通过干扰细胞质 Ca^{2+} 含量和胞质 pH 值影响 Ca-CaM 和 PKC 的活性而改变质膜 Ca^{2+} -ATPase 的磷酸化及其活性。酸雨中高含量的 Ca^{2+} 也可能使 Ca^{2+} -ATPase 对钙的敏感性钝化、亲和力下降而导致 Ca^{2+} -ATPase 活性的降低。鉴于胞内蛋白激酶活性受胞质 Ca^{2+} 含量和胞质 pH 值的影响, 再从 cAMP-PKA 信号通路作分析, 依赖于 cAMP 而活化的 PKA 催化亚基可以通过胞内的转位而接近不同的底物蛋白, PKA 通过对底物蛋白激酶或转录因子的磷酸化反应, 调节基因的转录或翻译, cAMP-PKA 信号通路通过 PKA 对其底物的磷酸化, 介导细胞的抗逆性信号, 调节细胞对外界刺激的反应。Xu 等^[15] 提供证据表明, PKA 可以通过磷酸化钙泵调节蛋白 (Ca^{2+} pump-regulatory protein)-phospholamban 使细胞的钙摄入增加, 从而激活了 Ca^{2+} /Calmodulin 依赖的蛋白激酶 (CaM kinase)。由此蛋白激酶 PKA 受酸雨影响后必然也使 Ca^{2+} -ATPase 的磷酸化及活性受影响。从以上分析可以发现, 植物体内信号传递系统具有立体网络性, 紧密联系相互调控, 共同介导植物对酸雨逆境的应答反应。

4 小 结

(1) 木麻黄幼苗小枝质膜 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 对酸雨非常敏感, 常随酸雨强度的加大其活性受愈来愈强的抑制, 在 3 个月 pH4.5 ~ 2.5 酸雨胁迫下, PM H^+ -ATPase 活性被抑制达 76.64% ~ 85.88%, 而 Ca^{2+} -ATPase 活性仅为对照的 14.12% ~ 4.7%。在 pH3.0 酸雨处理组, 质膜 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性出现异常的反弹升高, 这可能是木麻黄-盆土系统经一定强度和一定时间的酸雨累积胁迫后, 木麻黄表现出的抗逆应激生理反应。

(2) 酸雨对质膜 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性所产生的相似作用, 体现出质膜 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 对酸雨胁迫信号具有某种程度上相同的活性响应调节机制。植物体内信号传递系统具有立体网络性, 紧密联系相互调控, 共同介导植物对酸雨逆境的应答反应。

在实验中得到厦门大学生命科学学院潘文、刘景春、张瑞峰、薛博、梁洁等同学的帮助, 特此致谢!

参考文献:

- [1] Yan C L, Hong Y T, Lin P, et al. Accumulation of rare earth elements in spinach and soil under condition of using REE and acid rain stress [J]. *Journal of Rare Earths*, 2002, 20(2): 133.
- [2] Zheng H L, Zhao Z Q, Zhang C G, et al. Changes in lipid peroxidation, the redox system and ATPase activities in plasma membranes of rice seedling roots caused by lanthanum chloride [J]. *BioMetals*, 2000, 13: 157.
- [3] 章文华, 刘良友, 於丙军, 等. 大麦根液泡膜微囊依赖 ATP 质子泵测定技术的改进 [J]. *植物生理学通讯*, 1997, 33(4): 282 - 285.
- [4] 李新民, 倪嘉瓚, 王海英, 等. 稀土对肌质网 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响 [J]. *生物化学杂志*, 1995, 11(3): 281 - 284.
- [5] Ohnishi T, Gall R S, Mayer M L. An improved assay of inorganic phosphate in the presence of extralabile phosphate compounds: application to the ATPase assay in the presence of phosphocreatine [J]. *Anal. Biochem.*, 1975, 69: 261 - 267.
- [6] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal. Biochem.*, 1976, 72: 248 - 254.
- [7] Hodges T K. ATPase associated with membrane of plant cells [M] // Luttge U, Pitman M G. *Encyclopedia of Plant Physiology*. New Series, New York: Heidelberg, 1976.
- [8] Schaller G E, Sussman M R. Phosphorylation of the plasma-membrane H^+ -ATPase of oat roots by a calcium-stimulated protein kinase [J]. *Planta*, 1988, 173: 509.
- [9] Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants (Photocopy)* [M]. Beijing: Science Press (by arrangement with the American Society of Plant Physiologists, 2000), 2002: 110, 121, 123, 831 - 833.
- [10] Kunihiro K. Regulation of plasma membrane H^+ -ATPase activity by the membrane environment [J/OL]. *Journal of Plant Research*, [2003-08-07/2003-12-01]. <http://www.springerlink.com>.
- [11] Yan C L, Hong Y T, Yang X K, et al. Biological effect of rare-earth elements on anti-oxidation enzymes in wheat under acid rain stress [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1999, 44(2): 147.
- [12] David T C, Raymond S B. Lipid modulation of plasma membrane-bound ATPase [J]. *Physiol. Plant*, 1990, 78: 153 - 159.
- [13] Harper J L, Hong B, Hwang I, et al. A novel calmodulin-regulate Ca^{2+} -ATPase (ACA2) from Arabidopsis with an N-terminal autoinhibitory domain [J]. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273: 1099 - 1106.

- [14] 卢青,刘冀珑,陈大元.胞质钙信号[J].生命的化学, 1999,19(2):78-82.
- [15] Xu A, Hawkins C, Narayanan N. Ontogeny of sarcoplasmic reticulum protein phosphorylation by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase[J]. J. Mol. Cell Cardiol., 1997,29:405-418.

Responses of the Plasma Membrane Ion-pumping Activities of *Casuarina equisetifolia* Seedling Twigs to Acid Rain

LI Yu-hong^{1,2}, YAN Chong-ling^{1*}

(1. School of Life Sciences, Xiamen University,

2. State Key Laboratory of Marine Environmental Science (Xiamen University), Xiamen 361005, China)

Abstract : The plasma membrane ion-pumping activities were investigated in *Casuarina equisetifolia* under simulated acid rain stress with pH 4.5 ~ 2.5 for 3 months. The plasma membrane H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase of *Casuarina equisetifolia* seedling both were sensitive to acid rain, and their activities were inhibited more and more strongly with increasing acidity of acid rain generally. About 76.64 percent to 85.88 percent activities of the PM H^+ -ATPase were inhibited, while the PM Ca^{2+} -ATPase activities decreased to 14.12% ~ 4.7% of CK by acid rain stress with pH 4.5 ~ 2.5 for 3 months. But pH 3.0 acid rain enhanced H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase activities. The similar effects of acid rain on the plasma membrane H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase suggest that there is same mechanism to modulate the responds of both the ions-pumping activities to acid rain in some way.

Key words : *Casuarina equisetifolia*; plasma membrane H^+ -ATPase; plasma membrane Ca^{2+} -ATPase; acid rain