

Ca^{2+} -CaM 系统与甜菜抗丛根病生理特性的关系

陈贵华, 张少英, 李国龙, 张 帆

(内蒙古农业大学 农学院 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要: 为研究信号分子钙在甜菜抗丛根病过程中的作用, 用三种从不同位点阻断 Ca^{2+} 信号途径的抑制剂, 即 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA (乙二醇双四乙酸) (5 mmol/L)、 Ca^{2+} 通道阻遏剂 LaCl_3 (5 mmol/L) 和 CaM 拮抗剂 W_7 (N-氨基-5-氯-1-磺胺酰萘) (0.3 mmol/L), 分别处理种植于甜菜丛根病三级病土中的甜菜, 测定其抗氧化酶、 O_2^- 、 H_2O_2 及可溶性蛋白质的含量, 结果表明: EGTA (5 mmol/L)、 LaCl_3 (5 mmol/L) 和 W_7 (0.3 mmol/L) 可降低超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 的活性, 增加 O_2^- 的积累和 H_2O_2 的含量, 降低了可溶性蛋白质的含量。说明 Ca^{2+} -CaM 系统与甜菜抗丛根病性相关。

关键词: Ca^{2+} -CaM; 甜菜; 抗丛根病性; 抗氧化系统

中图分类号: S435.663 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2009)05-0184-04

The Relationship between Ca^{2+} -CaM and Physiological Characteristics of Resistance to Rhizomania in Sugar Beet

CHEN Gui-hua, ZHANG Shao-ying, LI Guo-long, ZHANG Fan

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China)

Abstract: In order to study the function of Ca^{2+} and CaM during the resistance to rhizomania, effects of 3 inhibitors of Ca^{2+} (EGTA, LaCl_3 and W_7) on antioxidant system, O_2^- production rate, H_2O_2 and soluble protein content were studied in sugar beet, cultivated in rhizomania contaminated soil. The results showed that SOD activity, POD activity, CAT activity, APX activity and soluble protein content decreased while O_2^- production rate and H_2O_2 content increased. It indicated a close relationship between resistance to rhizomania and Ca^{2+} -CaM.

Key words: Ca^{2+} -CaM; Sugar beet; Resistance to rhizomania; Physiological characteristics

Ca^{2+} 是一种非常广泛的细胞内信号分子^[1,2], 在逆境中, Ca^{2+} 与 CaM 结合后, 可激活一系列的靶酶和非酶蛋白, 从而调控植物生理代谢和基因表达^[3,4]。业已证实 Ca^{2+} 参与烟草和拟南芥的冷激和热激应答^[5,6]; 茄子和葡萄的热激反应^[7,8] 及拟南芥抗盐胁迫、干旱胁迫和氧化胁迫的过程^[9,10]; 李怀芳等^[11] 在研究烟草抗 TMV 时发现, Ca^{2+} 对病毒侵染有抑制作用; 张燕等^[12] 研究表明, 钙抑制剂降低植物细胞内 Ca^{2+} 浓度, Ca^{2+} 可调节抗氧化酶的活性, 从而影响植物的抗病性。

长期以来, 病害严重地制约着甜菜生产, 其中尤以甜菜丛根病危害最重。1952 年 Ganova 在意大利首先发现此病, 随后世界各国均相继发生, 是甜菜生产中的毁灭性病害。至于甜菜丛根病的抗病机制主

要集中在致病菌的分子生物学和致病特征, 抗病生理生化特性的研究, 而甜菜抗丛根病的信号转导途径尚未见报道。因此研究 Ca^{2+} -CaM 系统在甜菜抗病系统中的作用, 对研究甜菜抗丛根病机制以及建立甜菜抗丛根病信号转导途径均有意义。

1 材料和方法

甜菜抗丛根病品种农大甜研 4 号和内甜抗 201; 感丛根病品种甜研 304 和包育 202。甜菜进行盆栽种植于甜菜丛根病病土中 (病土取自于内蒙古农牧科学院三级丛根病病土)。播种后苗龄 50 d 的甜菜均进行药剂处理。将甜菜叶柄基部置于 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA (5 mmol/L)、 Ca^{2+} 通道阻遏剂 LaCl_3 (5 mmol/L) 和 CaM 拮抗剂 W_7 (0.3 mmol/L) 溶液中光照

收稿日期: 2009-05-28

基金项目: 国家自然科学基金 (30760125); 国家农业成果转化资金项目 (2006GB2A400038)

作者简介: 陈贵华 (1973-), 女, 内蒙古呼伦贝尔人, 讲师, 在读博士, 主要从事作物生理研究。

通讯作者: 张少英 (1962-), 女, 内蒙古呼和浩特人, 教授, 博士生导师, 主要从事作物生理方面研究与教学工作。

吸收 3 h 后取甜菜叶片进行测定。

SOD 活性测定参照 Dhindsa 等^[13] 的方法; POD 酶活性测定参照 Kochbz 等^[14] 方法; CAT 活性测定参照贾虎森和李德全^[15] 的方法; APX 活性测定参照沈文彪等的方法; H_2O_2 含量的测定参照 Patterson 等^[16] 的方法; O_2^- 产生速率的测定参照王爱国和罗文华等^[17] 的方法, 并加改进; 可溶性蛋白质含量的测定参照王学奎^[18] 的方法。

2 结果与分析

2.1 Ca^{2+} 、CaM 抑制剂对甜菜抗氧化系统的影响

植物在病原菌侵染后, 活性氧含量升高, 对植物产生伤害^[20]。已研究证明, 丛根病病毒侵染甜菜后, 活性氧含量升高, 抗病品种抗氧化酶活性升高^[21]。本试验经抑制剂 W_7 、EGTA 和 LaCl_3 处理后, 甜菜抗病品种 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性均下降, 但降低的幅度明显不同(图 1~4)。经方差分析表明, 甜菜各品种未处理的 SOD、POD 和 CAT 活性均显著高于抑制剂处理后($P=0.05$), 且以 W_7 的抑制作用最明显; 而 APX 活性差异不显著。甜菜抗病品种四种抗氧化酶活性均高于感病品种。这些说明 Ca-CaM 系统是通过调控抗氧化酶的活性而提高甜菜抗丛根病能力的。

2.2 Ca^{2+} 、CaM 抑制剂对甜菜 O_2^- 产生速率的影响

从图 5 可见, 在经抑制剂处理的甜菜抗病品种, O_2^- 产生速率均提高。经方差分析表明, 甜菜抗病品种抑制剂处理后的 O_2^- 均明显高于不做处理的, 且差异显著($P\leq 0.05$); 此外, 抑制剂对甜菜抗病品种的作用强于感病品种。这些说明 Ca^{2+} -CaM 可通过调控抗氧化系统, 从而降低 O_2^- 的产生速率, 提高甜菜对丛根病的抗性。

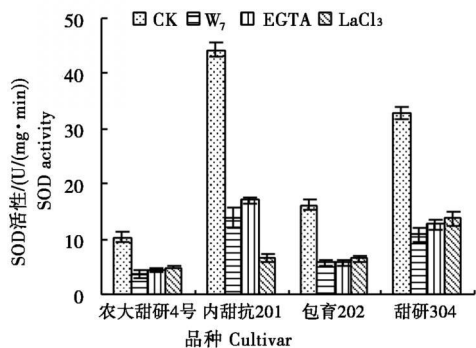


图 1 钙、钙调素抑制剂对甜菜不同品种 SOD 活性的影响
Fig. 1 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on SOD activity of sugar beet

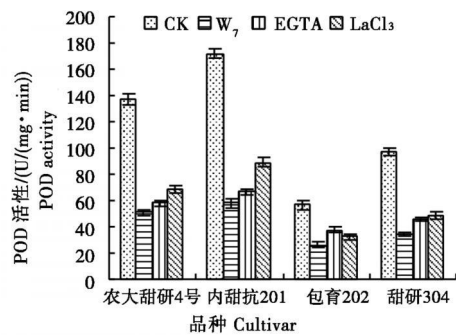


图 2 钙、钙调素抑制剂对甜菜不同品种 POD 活性的影响
Fig. 2 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on POD activity of sugar beet

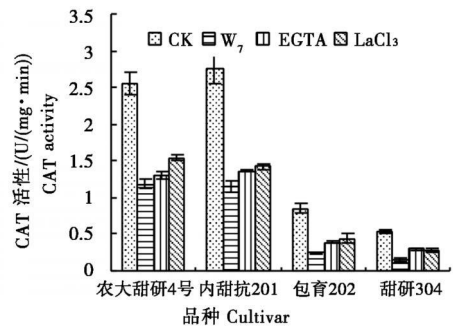


图 3 钙、钙调素抑制剂对甜菜不同品种 CAT 活性的影响
Fig. 3 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on CAT activity of sugar beet

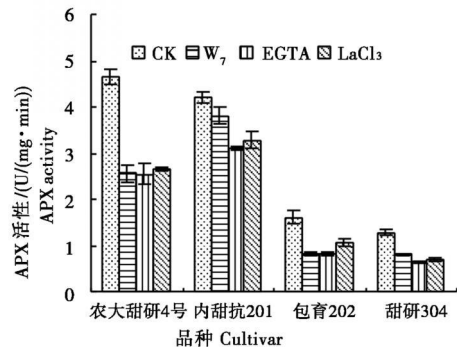


图 4 钙、钙调素抑制剂对甜菜不同品种 APX 活性的影响
Fig. 4 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on APX activity of sugar beet

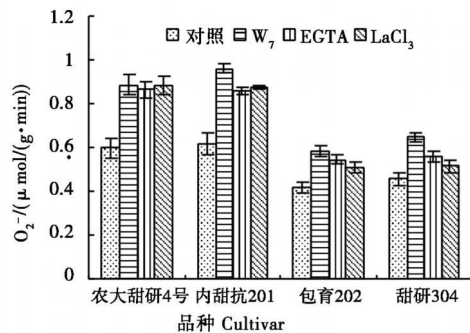


图 5 钙、钙调素抑制剂对甜菜不同品种 O_2^- 产生速率的影响
Fig. 5 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on O_2^- production rate of sugar beet

2.3 Ca^{2+} 、CaM 抑制剂对甜菜 H_2O_2 含量的影响

越来越多的研究表明, H_2O_2 在植物内作为第二信使发挥功能^[22]。从图 6 可见, 经抑制剂处理的甜菜各品种中 H_2O_2 含量有一定的升高。从图 3 显示, CAT 活性下降, 但图 6 结果 H_2O_2 含量升高幅度不大, 因此说明抑制剂抑制了 Ca^{2+} -CaM 系统, 同时也可能降低了 H_2O_2 的生成, 进一步说明 H_2O_2 可作为甜菜抗丛根病的一个信号分子。

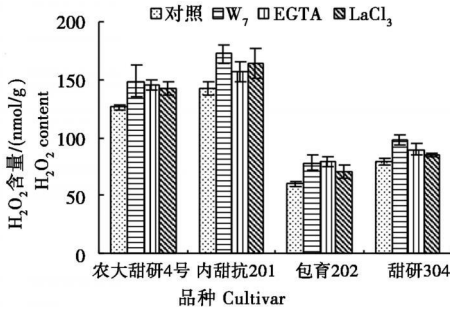


图 6 钙、钙调素抑制剂对甜菜品种 H_2O_2 含量的影响

Fig. 6 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on H_2O_2 content of sugar beet

2.4 Ca^{2+} 、CaM 抑制剂对甜菜可溶性蛋白质含量的影响

植物可溶性蛋白质大多数是参与各种代谢的酶类, 是反映植物总代谢强度的重要指标之一。图 7 表明, 经抑制剂处理后, 甜菜抗病、感病品种中可溶性蛋白质含量明显下降。经方差分析表明, 经抑制剂处理后甜菜可溶性蛋白质含量与不做处理的差异显著 ($P=0.05$)。试验结果说明 Ca^{2+} -CaM 系统可通过调控甜菜可溶性蛋白质的量, 增强代谢, 提高对丛根病的抗性。

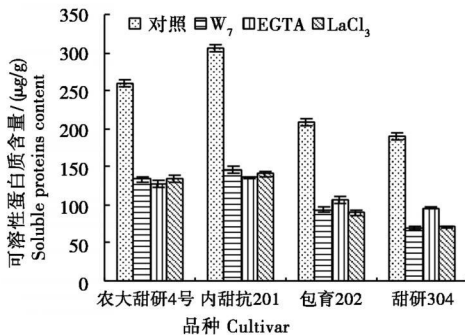


图 7 钙、钙调素抑制剂对甜菜不同品种可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 7 Effects of Ca^{2+} and CaM inhibitor on soluble proteins content of sugar beet

3 结论

细胞信号转导, 主要是研究细胞感受转导环境刺激的分子途径及其调控的基因表达和生理反应。 Ca^{2+} 信号通路是植物中已经确认的转导途径, CaM

是目前已知胞内 Ca^{2+} 信号受体中较重要的一种。在逆境下, 胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 结合并激活 CaM, 形成钙信号系统 (Ca^{2+} -CaM), 调节相关基因的表达, 推动相应的生理生化变化^[23]。

经本试验结果分析表明, 丛根病病原菌侵染甜菜后, 可通过 Ca^{2+} -CaM 系统调控甜菜抗氧化酶活性, 降低活性氧含量, 提高了甜菜抗丛根病的能力。说明 Ca^{2+} -CaM 系统与甜菜抗丛根病性密切相关。

参考文献:

- [1] Snedden W A, Fromm H. Calmodulin as a versatile calcium signal transducer in plants [J]. New Phytol, 2001, 151: 35—66.
- [2] Yang T, Poovaiah B W. Calcium/ calmodulin-mediated signal network in plant [J]. Plant Science, 2003, 8: 505—512.
- [3] 孙大业, 郭艳林, 马力耕, 等. 细胞信号转导 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 260—266.
- [4] 郭秀林, 李孟军, 关军锋, 等. PEG 胁迫下小麦幼苗 ABA 与 Ca^{2+} -CaM 的关系 [J]. 作物学报, 2002, 28(4): 537—540.
- [5] Knight H, Knight M R. Imaging spatial and cellular characteristics of low temperature calcium signature after cold acclimation in *Arabidopsis* [J]. J Exp Bot, 2000, 51(351): 1679—1686.
- [6] 陈贵林, 贾开志. 钙和钙调素拮抗剂对高温胁迫下茄子幼苗抗氧化系统的影响 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(1): 197—202.
- [7] 李冰, 周人纲. 植物热激反应的信号转导机理 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2002, 28: 1—10.
- [8] 刘悦萍, 黄卫东, 张俊环. 钙—钙调素对水杨酸诱导葡萄幼苗耐热性的影响及与抗氧化的关系 [J]. 园艺学报, 2005, 32(3): 381—386.
- [9] Kiegle E, Moore C A, Haseloff J, et al. Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the *Arabidopsis* root [J]. Plant Journal, 2000, 23(2): 265—278.
- [10] Rentel M C, Lecourieux D, Ouaked F. OXII kinase is necessary for oxidative burst-mediated signaling in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2004, 427: 858—861.
- [11] 李怀芳, 张莉. 钙镁离子对 TMV 侵染的抑制作用 [J]. 植物保护, 1994, 20(5): 2—4.
- [12] 张燕, 方力, 李天飞, 等. 钙对低温胁迫的烟草幼苗某些酶活性的影响 [J]. 植物学通报, 2002, 19(3): 342—347.
- [13] Dhindsa R S, Dhindsa P P, Thrope T A. Leaf senescence; correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide disutase and catqalase [J]. J Exp Bot, 1981, 3: 93—101.
- [14] Kochba J, Lavee S, Spiege R P. Difference on peroxidase activity and isoenzyes in embryogenic and non-embryogenic

- Shamouti orange ovular callus lines[J]. *Plant Cell Physiol*, 1977, 18: 463—467.
- [15] 贾虎森, 李德全. 水分胁迫下苹果叶片的 H_2O_2 代谢[J]. *植物生理学报*, 2001, 27(4): 321—324.
- [16] 沈文彪, 徐朗莱, 叶茂炳, 等. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨[J]. *植物生理学通讯*, 1996, 32(3): 203—205.
- [17] Patterson B D, Mackae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium[J]. *Al Biochem*, 1984, 139: 487—492.
- [18] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J]. *植物生理学通讯*, 1990(6): 55—57.
- [19] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 186—194.
- [20] Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 251—275.
- [21] 王俊斌. 甜菜抗(耐)丛根病某些生理生化特性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2004.
- [22] Grant J J, Loake G J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance[J]. *Plant Physiol*, 2000, 124: 21—30.
- [23] Medvedev S S. Calcium signaling system in plants[J]. *Plant Physiol*, 2005, 52(2): 249—270.

欢迎订阅 2010 年《中国农业科学》中、英文版

《中国农业科学》中、英文版由农业部主管、中国农业科学院主办。主要刊登农牧业基础科学和应用基础科学研究论文、综述、简报等。设有作物遗传育种; 耕作栽培; 生理生化; 植物保护; 土壤肥料; 节水灌溉; 农业生态环境; 园艺; 园林; 贮藏; 保鲜; 加工; 畜牧; 兽医等栏目。读者对象是国内外农业科研院(所)、农业大专院校的科研、教学人员。

《中国农业科学》中文版影响因子、总被引频次连续多年居全国农业科技期刊最前列或前列位次。1999 年起连续 10 年获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”资助; 2001 年入选中国期刊方阵双高期刊; 1999 年获“首届国家期刊奖”, 2003、2005 年获“第二、三届全国国家期刊奖提名奖”; 2004—2006 年连续荣获第四、五届全国农业优秀期刊特等奖; 2001 年起 6 次被中信所授予“百种中国杰出学术期刊”称号; 2008 年获中国科技信息研究所“精品科技期刊”称号, 及武汉大学中国科学评价中心“权威期刊”称号。在北京大学《中文核心期刊要目总览(2004 年版)》中位居“农业综合类核心期刊表”首位。2010 年起中文版改为半月刊, 将有更多最新农业科研成果通过《中国农业科学》及时报道。

《中国农业科学》英文版(Agricultural Sciences in China)2002 年创刊, 2006 年 1 月起正式与国际著名出版集团 Elsevier 合作, 海外发行由 Elsevier 全面代理, 全文数据在 ScienceDirect 平台面向世界发行。2010 年起英文版页码增至 160 页。

《中国农业科学》中文版大 16 开, 每月 1、16 日出版, 国内外公开发行。每期 224 页, 定价 49.50 元, 全年定价 1188.00 元, 国内统一刊号: CN 11—1328/S, 国际标准刊号: ISSN 0578—1752, 邮发代号: 2—138, 国外代号: BM43。《中国农业科学》英文版大 16 开, 每月 20 日出版, 国内外公开发行。每期 160 页, 国内订价 36.00 元, 全年 432.00 元, 国内统一刊号: CN 11—4720/S, 国际标准刊号: ISSN 1671—2927, 邮发代号: 2—851, 国外代号: 1591M。

邮编: 100081 地址: 北京中关村南大街 12 号《中国农业科学》编辑部

电话: 010—82109808, 82106279, 82106283, 82106282 传真: 010—82106247

网址: www.ChinaAgriSci.com E-mail: zgnykx@mail.caas.net.cn