

# CaM 对渗透胁迫下小麦幼苗 ABA 合成的介导作用研究

孟建朝<sup>1</sup>, 刘子会<sup>2</sup>, 李孟军<sup>3</sup>, 郭秀林<sup>2</sup>

(1. 河北省农林科学院棉花研究所, 河北 石家庄 050051; 2. 河北省农林科学院遗传生理研究所, 河北 石家庄 050051;

3. 河北省农林科学院粮油作物研究所, 河北 石家庄 050031)

**摘要:** ABA 作为干旱信号物质在植物抗逆生理反应过程中起着至关重要的作用, 揭示 ABA 合成及其信号转导机制对于探明植物干旱信息的感受机制尤为重要。通过外使 CaM 拮抗剂 TFP、ABA 以及分根试验, 研究了渗透胁迫下小麦幼苗根系和叶片中 ABA 和 CaM 含量和时间的变化。渗透胁迫均促进根系和叶片 ABA 和 CaM 含量不同程度地提高, 根系 ABA 含量峰值出现的时间早于叶片, 而 CaM 峰值出现的时间晚于叶片。但根系和叶片 ABA 峰值均不晚于 CaM。不同浓度 TFP 和 ABA 处理都能提高根系和叶片 ABA 和 CaM 含量, 与渗透胁迫相比, ABA 呈现先升高后降低趋势, 且最大值出现的时间类似, 但 CaM 呈持续上升趋势。TFP 处理抑制根系 CaM 含量增加, 而对叶片有促进效应。ABA 处理呈现浓度效应。与全根胁迫相比, 分根胁迫对胁迫根系 ABA 含量影响不明显, 但与正常对照相比, 显著提高了未胁迫部分根系 ABA 含量, 但二者峰值出现的时间分别滞后 6 和 18 h; 叶片 ABA 和 CaM 含量也相应提高, 且最大值滞后 12 h。CaM 可能未参与渗透胁迫下 ABA 的合成过程, 渗透胁迫引起 ABA 合成后, 调控胞内 CaM 水平。

**关键词:** 小麦; 根系; 渗透胁迫; ABA; CaM

**中图分类号:** S512.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2007)02-0106-05

## Study of CaM Function in the Process of ABA Synthesis in Roots of Winter Wheat Seedlings Under Osmotic Stress

MENG Jian-chao<sup>1</sup>, LIU Zi-hui<sup>2</sup>, LI Meng-jun<sup>3</sup>, GUO Xiu-lin<sup>2</sup>

(1. Institute of Cotton, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051,

China; 2. Institute of Genetics and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences,

Shijiazhuang 050051, China; 3. Institute of Cereal and Oil Crop, Hebei Academy of

Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031, China)

**Abstract:** ABA plays an important role in the process of drought resistance as a drought signal molecular, so it's necessary to investigate the mechanism of ABA synthesis and it's signal transduction. Under PEG stress, both the ABA and CaM contents and the time of the largest values appearance were measured using the roots and leaves of 2-leaf-old winter wheat seedlings treated with ABA, part-roots stress and pre-treated with exterior TFP for 24 h respectively. ABA and CaM contents of roots and leaves were all increased at different extend by PEG, the time of the largest ABA appearance in root was prior to that of the leaves, but CaM was late. And the time of the largest ABA content were not late to that of CaM either in roots or in leaves. The ABA and CaM contents both roots and leaves were all enhanced by exterior TFP and ABA, and CaM contents appeared rise continually. Compared to PEG stress, the time of the largest ABA appearance was similar. When subjected to part-roots stress, the ABA content of roots which were subjected to stress didn't be affected, but it was increased in the roots of non-stressed seedlings, and the time of the largest value were lagged for 6 h and 18 h in both stressed-roots and non-stressed roots respectively; the CaM contents were all increased in both part of roots and leaves too. Compared to control, the times of the largest CaM and ABA values in leaves were all lagged for 12 h. CaM may not participate in the process of ABA synthesis of root under PEG stress. The ABA regulated the CaM level after synthesis under PEG stress.

**Key words:** Winter wheat; Root; Osmotic stress; Absciscic acid; CaM

收稿日期: 2006-12-20

基金项目: 河北省财政厅人才基金项目(2060302)

作者简介: 孟建朝(1972-), 男, 河北深州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事作物栽培生理研究

通讯作者: 郭秀林(1971-), 女, 河北康保人, 副研究员, 博士, 主要从事植物抗逆生理及分子遗传研究工作。

ABA 作为一种干旱信号物质,从 20 世纪 90 年代以来越来越受到植物生理学家的关注。研究表明,当根系感受到干旱胁迫时,根尖细胞能迅速合成 ABA。ABA 合成后运出根系,经木质部随蒸腾流向上到达叶片,促进气孔关闭,从而减少蒸腾,同时引起叶片相关基因的表达。因而 ABA 在植物抗逆生理反应过程中起着重要的调控作用<sup>[1]</sup>。尽管近年来对 ABA 的研究较多,但大多数是围绕 ABA 促进气孔关闭的机理展开的,同时也证明,钙离子参与了上述过程<sup>[2]</sup>。但是,对于植物根系感受干旱信息的起始进而引起 ABA 合成及其信号转导机制方面,目前了解的还远远不够。我们前期的工作表明,干旱胁迫下小麦根系 ABA 合成过程与胞质钙离子浓度有关,钙离子也参与了水分胁迫下玉米幼苗 ABA 的信息转导过程<sup>[3-5]</sup>。随着钙、钙调素作为第二信使物质的发现,人们对其机理和功能的认识也越来越深入。研究表明,  $\text{Ca}^{2+}$  / CaM 信使系统不仅参与干旱胁迫下小麦幼苗胚芽鞘和幼根的生长<sup>[6]</sup>,茄子和杨树抗冷性<sup>[7,8]</sup>,还能通过提高抗氧化酶活性、调节抗氧化剂含量、降低膜质过氧化水平来调节茄子幼苗对高温逆境的适应性<sup>[9,10]</sup>。作为钙信使系统的一部分,钙调素也参与诸如热激引起的信号转导过程<sup>[11,12]</sup>。已知胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的改变是植物细胞感受并传导逆境刺激信号的中心环节,  $\text{Ca}^{2+}$  通过与 CaM 结合而激活一系列的靶酶和非酶蛋白,从而调控生理代谢及基因表达<sup>[13]</sup>。TFP(三氟啦嗪)作为 CaM 拮抗剂,可导致  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM 信号功能发生障碍。那么,干旱胁迫下小麦根系 ABA 合成过程是否与钙调素有关,至今尚未见明确报道。为此,本文以小麦幼苗为试材,通过外源试剂和根根胁迫处理,对干旱胁迫条件下根系和叶片 ABA 和 CaM 的含量和时间变化进行了初步探讨,以期揭示 CaM 在植物抗旱生理过程中的作用机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

供试材料为冬小麦(*Triticum aestivum* L.) 4185,由河北省农林科学院遗传生理所提供。

### 1.2 小麦幼苗培养

种子经精选后,用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒 10 min,蒸馏水反复冲洗,室温浸泡吸水 24 h,然后在 28℃ 恒温培养箱中催芽 48 h。待胚根长至 1 cm 左右,选取生长一致的籽粒播在绷有纱网的塑料盆内进行水培,培养室昼夜温度为 25℃/20℃,光照强度 6 000 lx。每天光照 13 h。长至一叶一心,改用 Hoagland

培养液培养至二叶一心。

### 1.3 处理方法

1.3.1 TFP+PEG 处理 小麦长到两叶一心期,用含有不同浓度 TFP(30 和 100  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 Hoagland 培养液预处理小麦幼苗 24 h。然后用 PEG-6000 进行渗透胁迫处理,使培养液渗透势达 -0.85 MPa。

1.3.2 ABA+PEG 处理 小麦长到两叶一心期,用含有不同浓度 ABA(100 和 300  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 Hoagland 培养液处理小麦幼苗,同时加入 PEG-6000 进行渗透胁迫处理,使培养液渗透势达 -0.85 MPa。

1.3.3 分根试验 小麦长到两叶一心时,将根系分别置于 2 个暗培养盒中。其中一个浇营养液,另一个用 PEG-6000 对根系进行胁迫处理,培养液渗透势最终达 -0.85 MPa。

### 1.4 ABA 与 CaM 含量测定

选取各处理第 2 片叶中段和距根冠 2 cm 的根尖迅速液氮冷冻备用。ABA 和 CaM 含量测定分别参照周燮和赵升皓的方法<sup>[14,15]</sup>,均用 ELISA 法测定。ABA 试剂盒购于南京农业大学, CaM 由河北师范大学生物系提供。

## 2 结果与分析

### 2.1 渗透胁迫对根系和叶片 ABA 和 CaM 含量的影响

从图 1 可见,正常条件下,根系 ABA 含量高于叶片,随着胁迫时间的延长,正常根叶中 ABA 含量变化不明显,PEG 处理后,ABA 含量皆呈先升后降的趋势。不同的是,根系在胁迫后约 6 h 出现峰值,先于叶片 6 h。对于 CaM 而言,正常根和叶中 CaM 水平变化幅度不明显,PEG 处理后, CaM 含量随时间的变化类似于 ABA,但是 PEG 处理的根系中 CaM 最大值出现在 36 h,滞后于叶片(图 2)。

### 2.2 渗透胁迫下外源 ABA 对根系和叶片 ABA 和 CaM 含量的影响

从图 3 可以看出,同单独 PEG 胁迫相比,外源 ABA 处理后,根系和叶片中 ABA 含量大幅度提高,且 ABA 浓度越大,提高程度越明显。100  $\mu\text{mol/L}$  ABA 与 300  $\mu\text{mol/L}$  ABA 分别处理后,根部 ABA 最大值可达叶片的 8~9 倍。外源 ABA 处理后,ABA 出现峰值的时间同样是在 6 h。

图 4 表明,同单独 PEG 胁迫相比,ABA 处理后,根系和叶片中 CaM 水平皆呈持续上升趋势,且外源 ABA 浓度越大,上升幅度越大。胁迫 48 h 时,100  $\mu\text{mol/L}$  ABA 与 300  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理的根中 CaM 水平约为叶片含量的 3 倍。这表明,外源 ABA 处理对

小麦幼苗 CaM 水平有显著影响。

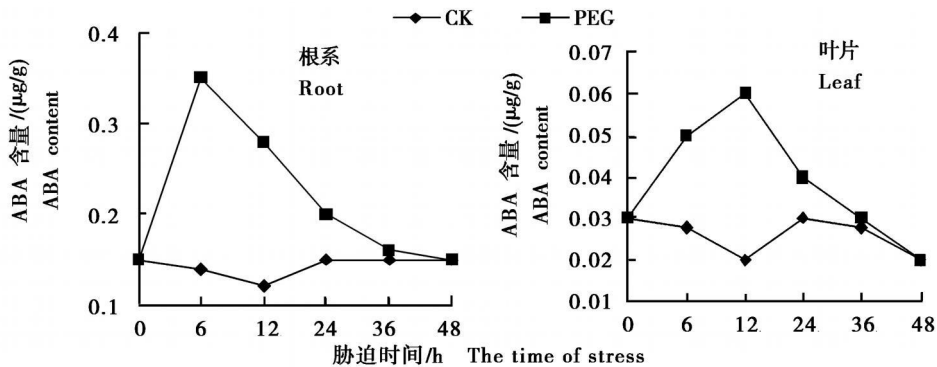


图1 渗透胁迫下根系和叶片 ABA 含量变化

Fig 1 Changes of ABA contents both roots and leaves under osmotic stress

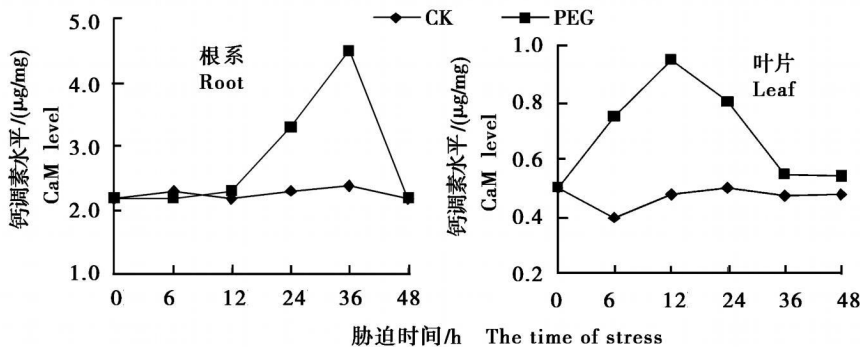


图2 渗透胁迫下根系和叶片 CaM 含量变化

Fig 2 Changes of CaM contents both roots and leaves under osmotic stress

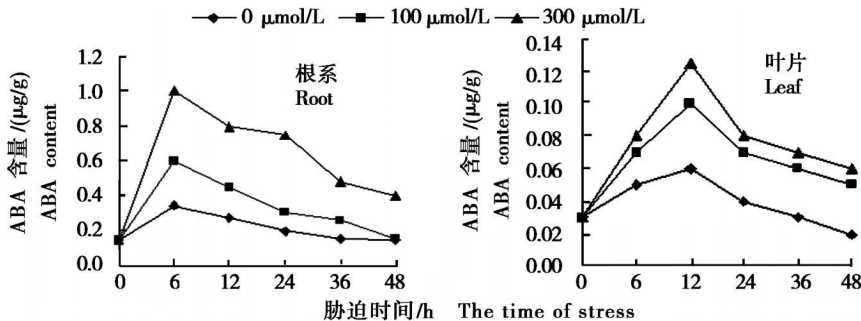


图3 外源 ABA 处理后根系和叶片 ABA 含量的变化

Fig 3 Changes of ABA contents both roots and leaves after treated with ABA

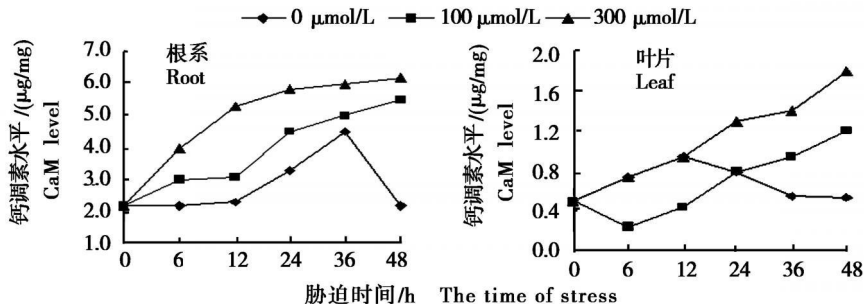


图4 外源 ABA 处理后根系和叶片 CaM 含量的变化

Fig 4 Changes of CaM contents both roots and leaves after treated with ABA

### 2.3 渗透胁迫下三氟啦嗪处理对根系和叶片 ABA 和 CaM 含量的影响

从图 5 可见,不同浓度 TFP 预处理显著提高根系 ABA 含量, 0 h 时 TFP 浓度越大, ABA 含量增加幅度越大, 之后 ABA 含量随时间变化类似于单独

PEG 胁迫。叶片上增加幅度不明显, 但 100 μmol/L TFP 处理使得叶片 ABA 含量最大值滞后 6 h。

从 CaM 的变化来看,TFP 处理似乎对 PEG 引起根系 CaM 含量提高有抑制作用, 且表现浓度效应; 不同于根系, 叶片上表现出促进效应, 且胁迫前期与

TFP 浓度有正相关关系(图6)。

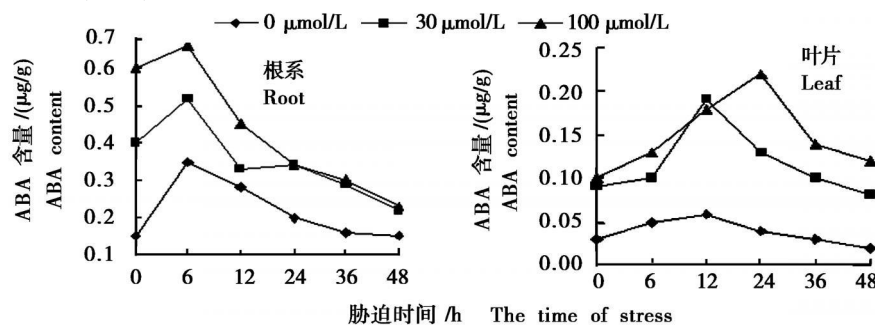


图 5 TFP 处理后根系和叶片 ABA 含量的变化  
Fig 5 Changes of ABA contents both roots and leaves after treated with TFP

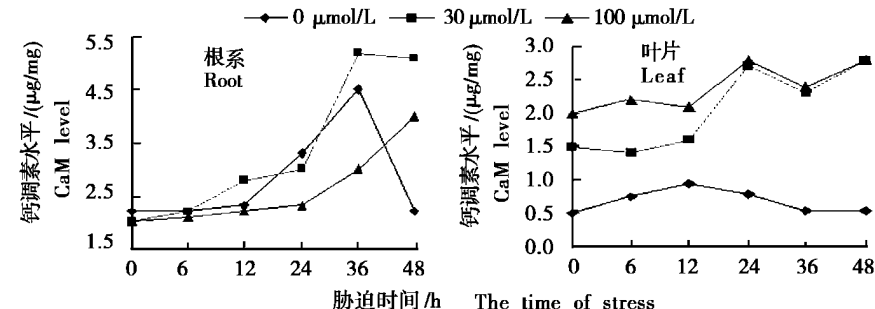


图 6 TFP 处理后根系和叶片 CaM 含量的变化  
Fig 6 Changes of CaM contents both roots and leaves after treated with TFP

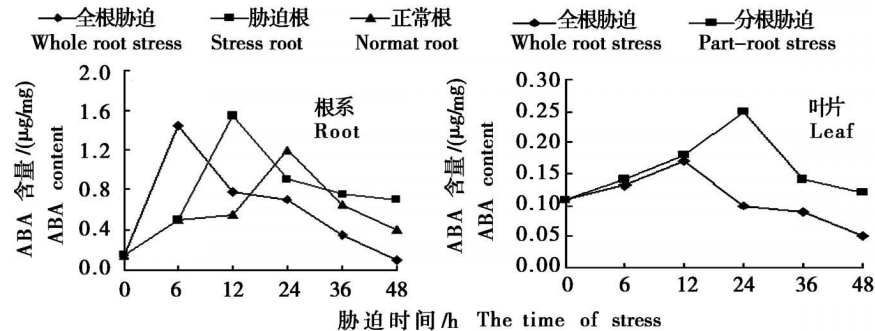


图 7 分根胁迫后根系和叶片 ABA 含量的变化  
Fig 7 Changes of ABA contents both roots and leaves after root partial stress

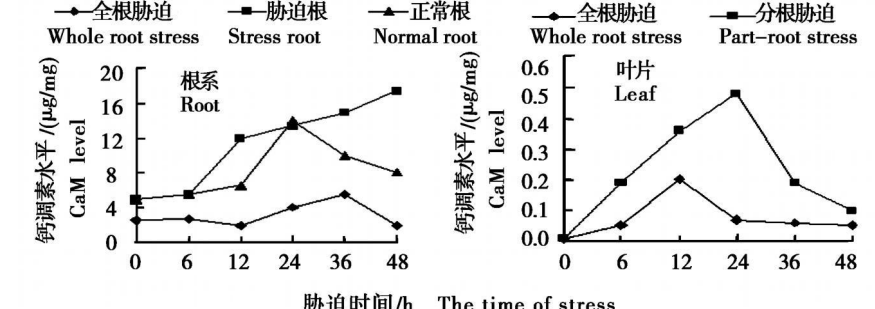


图 8 分根胁迫后根系和叶片 CaM 含量的变化  
Fig 8 Changes of CaM contents both roots and leaves after root partial stress

## 2.4 部分根系受渗透胁迫的小麦幼苗根系和叶片 ABA 和 CaM 含量变化

与全根受渗透胁迫的相比,分根胁迫处理后,胁迫根和正常根系中 ABA 峰值出现时间分别滞后 6 和 12 h,2 个受胁迫根系中 ABA 含量相当,但正常一半根系中 ABA 含量低于处理根系;叶中 ABA 峰

值也滞后 12 h,但其含量显著高于全根受渗透胁迫的叶片(图7)。

与全根受渗透胁迫相比,分根时,受渗透胁迫的根系中 CaM 含量一直呈上升趋势,且明显高于全根受渗透胁迫的根系;正常根系中 CaM 含量在 24 h 出现峰值。叶片中 CaM 峰值出现时间滞后(24 h),但

其含量也显著高于全根受渗透胁迫的叶片。分根时,培养液中的根系于 24 h 时出现 1 个明显的 CaM 峰值,其含量高于全根受渗透胁迫的根系(图 8)。

### 3 讨论

作为一种干旱信号物质,ABA 在调节气孔关闭、降低蒸腾速率,抵御旱害过程中发挥着重要的调控作用<sup>[1]</sup>。因此,揭示 ABA 的合成及其信号转导机制对于解释植物干旱信息的感受和传递过程尤为重要。前人的研究表明,植物的光形态建成、极性生长、孢子萌发等生理过程都与 CaM 有关,有人称 CaM 为细胞代谢调控的整合剂。特别是它作为细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  受体,既调节细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度,又介导  $\text{Ca}^{2+}$  的功能,同时还调节第二信使 cAMP 的合成与分解<sup>[13]</sup>。因此,在第二信使调节体系中, CaM 处于中心地位。本研究是在前期研究钙离子参与干旱胁迫下 ABA 合成过程的基础上,进而研究钙调素对于干旱信息的介导作用。

试验结果首先表明,正常条件下,小麦根系 ABA 和 CaM 含量明显高于叶片,渗透胁迫皆能引起 2 个部位 ABA 和 CaM 含量不同程度地升高,且根系 ABA 最大值出现的时间早于叶片,而 CaM 最大值出现的时间晚于叶片。外源 ABA 处理与 PEG 胁迫处理的 ABA 变化趋势表现一致,只是数值大小有异。这一方面证明了前人关于干旱胁迫下根系首先合成 ABA 观点,同时表明,作为一种广泛介导的信号分子, CaM 很可能在 ABA 信息传递过程中行使第二信使的功能,但是由于根系和叶片中 CaM 出现峰值的时间滞后 ABA,或与峰值同时出现,初步判断, CaM 可能不是 ABA 合成早期的信号分子。在外源 ABA 诱导下,小麦幼苗根叶中 ABA 发生变化的同时, CaM 水平呈现出持续升高的变化趋势,但是,叶片变化不如根系明显。这一现象与 CaM 作为信号分子相违背,推测很可能根系合成 ABA 后,进而调控 CaM 水平升高。

试验结果显示,TFP 预处理能显著提高 PEG 胁迫前期根系和叶片 ABA 含量,且浓度越大,效果越明显,但叶片上浓度效应不明显。作为一种胞外 CaM 拮抗剂,TFP 预处理在根系上表现出明显的浓度抑制效应,但叶片上不但抑制 CaM 含量,反而促进钙调素水平增加。这进一步说明, CaM 水平受根系合成的 ABA 的调控。分根胁迫后,不但胁迫部

分根系中 CaM 水平增加,正常部分根系中 CaM 水平也增加,而且达到最大值的时间与 ABA 一致。这也说明,胁迫部分根系合成 ABA 后,在对正常部分根系 ABA 水平调控的同时,也调控 CaM 水平变化。

上述分析结果表明,胞外钙调素没有参与渗透胁迫下 ABA 的合成过程,但是渗透胁迫引起 ABA 合成后,胞外钙调素可通过一系列的生理反应来调控胞内钙调素水平。另外,因为试验中检测到的是胞外和胞内钙调素总的变化趋势,还不能具体区分出胞外和胞内钙调素的作用或调控机制。那么,胞内钙调素水平引发那些生理生化代谢过程,还需要继续深入地研究和探讨。

### 参考文献:

- [1] Davies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil [J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42: 55– 76.
- [2] David W, Hamilton A, Adrian Hills, *et al.*  $\text{Ca}^{2+}$  channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarization and abscisic acid [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(9): 4967– 4972.
- [3] 郭秀林, 刘子会, 李广敏.  $\text{Ca}^{2+}$  / CaM 对玉米干旱信息的介导作用研究 [J]. *作物学报*, 2005, 31(8): 1001– 1006 (in Chinese).
- [4] Guo X L, Liu Z H, Li G M. Drought-induced changes in xylem sap pH, ABA and stomatal conductance [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2004, 3(7): 496– 501.
- [5] 郭秀林, 李孟军, 李广敏. PEG 胁迫下小麦幼苗 ABA 与  $\text{Ca}^{2+}$  / CaM 的关系 [J]. *作物学报*, 2002, 28(4): 537– 540.
- [6] 关军锋, 郑桂珍, 李广敏. 干旱胁迫下 CaM 与小麦胚芽鞘和幼根生长的关系 [J]. *作物学报*, 2004, 30(10): 1042– 1046.
- [7] 高洪波, 陈贵林. 钙调素拮抗剂与  $\text{Ca}^{2+}$  对茄子幼苗抗冷性的影响 [J]. *园艺学报*, 2002, 29(3): 243– 246.
- [8] 林善枝, 张志毅, 林元震, 等. 钙-钙调素在零下低温诱导毛白杨扦插苗抗冻性中的作用 [J]. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30(1): 59– 68.
- [9] 孙立平, 何宝坤, 吴学友, 等. 渗透胁迫下 ABA 及  $\text{Ca}^{2+}$  / CaM 信使系统对玉米幼苗根系 6315kD 热稳定蛋白的调控作用 [J]. *作物学报*, 2005, 31(1): 83– 87.
- [10] 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.
- [11] Li B, Liu H T, Sun D Y, *et al.*  $\text{Ca}^{2+}$  and calmodulin modulate DNA-binding activity of maize heat shock transcription factor *in vitro* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(5): 627– 634.
- [12] Liu H T, Li B, Shang Z L, *et al.* Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(3): 1186– 1195.
- [13] Sun D Y, Guo Y L, Ma L G. Signal transduction in cell [M]. Beijing: Science Press, 2000: 110– 118.
- [14] 李宗霆, 周 燮. 植物激素及其免疫检测技术 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996.
- [15] 赵升皓, 于宏林, 张明志, 等. 用法测定钙调素 [J]. *徐州医学院学报*, 1988, 8(1): 54– 58.