

## 水分胁迫下脱落酸及磷脂酶在玉米幼苗根系渗透调节物质积累中的信号作用\*

郑风荣 谷令坤 李德全\*\*

(山东农业大学生命科学院 泰安 271018)

**摘要** 试验研究了水分胁迫下、脱落酸(ABA)、PLD/PLC抑制剂新霉素硫酸盐及脱落酸合成抑制剂 Ancymidol 在玉米幼苗根系渗透调节物质积累中的信号作用,结果表明水分胁迫下脱落酸可促进脯氨酸、可溶性糖和  $Ca^{2+}$  的积累,但不能促进游离氨基酸和  $K^+$  的积累,且 PLD/PLC 可能对脯氨酸、可溶性糖和游离氨基酸的积累有一定促进作用,但对  $K^+$  和  $Ca^{2+}$  的积累不起作用。

**关键词** 玉米幼苗根系 水分胁迫 渗透调节物质 脱落酸 磷脂酶

**Signal effects of ABA and phospholipase on the osmotica accumulated in roots of maize seedling under water stress.**

ZHENG Feng-Rong, GU Ling-Kun, LI De-Quan (College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018), *CJEA*, 2004, 12(4): 78~81

**Abstract** The study on the signal effects of ABA, neomycin sulfate (PLD/PLC inhibitor), ancymidol (ABA inhibitor) on the osmotica accumulated in roots of maize seedling under water stress shows that ABA can promote the accumulation of proline, soluble sugars and  $Ca^{2+}$ , but can not promote the accumulation of free amino acid and  $K^+$ , and the PLD/PLC may promote the accumulation of proline, soluble sugars and free amino acid, but can not promote the accumulation of  $K^+$  and  $Ca^{2+}$ .

**Key words** Maize seedling roots, Water stress, Osmotica, ABA, Phospholipase

水分胁迫下植株脱落酸含量增加,一些渗透调节物质受脱落酸诱导。目前有关干旱胁迫下脱落酸引起气孔关闭、诱导基因表达和脱落酸调节基因结构<sup>[1]</sup>等方面研究已多见报道,但对脱落酸信号的感受、转换、传导甚至物质跨膜运输等中间步骤尚不清楚。研究表明植物细胞感受胁迫信号后大致经2条胞内信号传导途径实现其对基因表达的调节,一条为依赖脱落酸合成的信号传导途径,另一条为不依赖脱落酸合成的信号传导途径。近年研究证明  $Ca^{2+}$ /CaM、pH、环腺嘌呤核糖(cADPR)、依赖  $Ca^{2+}$  的蛋白激酶(CDPKs)、MAP 激酶(MAPKs)等参与了脱落酸和/或渗透胁迫信号传导途径。并发现磷脂酶在细胞信号传递、激素作用的发挥、膜运输、细胞增殖、细胞骨架组装、防御反应、分化和增殖等过程中均起一定作用<sup>[2,3]</sup>。许多胁迫条件下如冷害、干旱、伤害、病原菌侵染、营养匮乏及空气污染等均可观测到植物体内磷脂酶水解磷脂<sup>[3]</sup>。本试验研究了水分胁迫下脱落酸和磷脂酶在渗透调节物质积累中的信号作用,为明确其作用机理提供依据。

### 1 试验材料与方法

供试玉米品种为抗旱性较强的“鲁玉14”和抗旱性较弱的“掖单13”,种子经精选、消毒、催芽后均匀摆在沙网上,水培至1叶1心期,换用 Hoagland 营养液培养幼苗至3叶1心期(用光照培养箱控制昼夜温度为25℃/15℃)。处理  $T_1$  为 Hoagland 营养液,处理  $T_2$  为 Hoagland 营养液与50  $\mu$ mol/L 脱落酸抑制剂 Ancymidol 同时处理,  $T_3$  为 Hoagland 营养液、50  $\mu$ mol/L 脱落酸抑制剂 Ancymidol 与1mmol/L PLC/PLD 抑制剂新霉素硫酸盐同时处理,  $T_4$  为 Hoagland 营养液、50  $\mu$ mol/L Ancymidol、20  $\mu$ mol/L 脱落酸与1mmol/L 新霉素硫酸盐同时处理,  $T_5$  为 Hoagland 营养液、50  $\mu$ mol/L 脱落酸抑制剂与20  $\mu$ mol/L 脱落酸同时处理。以上各处理根系浸泡12h后换用100g/kg的PEG-6000模拟水分胁迫进行根际干旱处理,其渗透势相当于-0.50MPa,每处理3次重复,24h、48h和72h后取玉米幼苗根系用酸性水合茚三酮显色法测定脯氨酸含量,用1mol/L盐酸浸提、等离子体发射光谱法测定  $Ca^{2+}$  含量,用氰酸盐水合茚三酮比色法测定游离氨基酸含量,用苯酚法测定

\* 国家自然科学基金项目(39870526)和教育部骨干教师资助计划项目共同资助

\*\* 通讯作者

收稿日期:2003-06-09 改回日期:2003-08-31

可溶性糖含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系脯氨酸积累中的信号作用

由图 1 可知 PEG-6000 模拟水分胁迫下,加入脱落酸抑制剂的 T<sub>2</sub> 处理脯氨酸含量较 T<sub>1</sub> 处理有所下降,

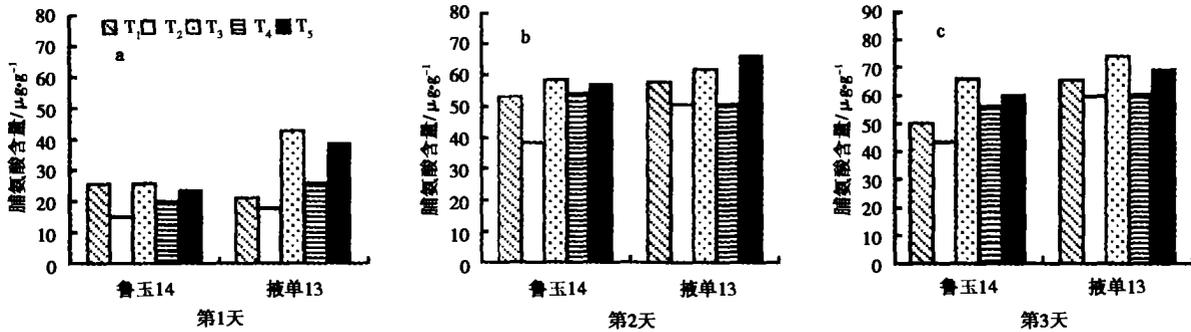


图 1 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系脯氨酸积累中的作用

Fig.1 Effects of ABA and PLD/PLC on the proline accumulation in roots of maize seedlings under water stress

表明内源脱落酸在水分胁迫下有利于脯氨酸的积累。加入 PLD/PLC 抑制剂的 T<sub>3</sub> 处理较 T<sub>2</sub> 处理并未降低脯氨酸含量,表明水分胁迫下脯氨酸积累除依赖脱落酸途径外还存在不依赖脱落酸的途径,且 PLD/PLC 并非参与不依赖脱落酸促进脯氨酸积累途径的信号传导。加入外源脱落酸的 T<sub>4</sub> 处理较 T<sub>3</sub> 处理并未增加脯氨酸含量,表明脯氨酸积累存在不依赖脱落酸的途径,且 PLD/PLC 并非参与不依赖脱落酸促进脯氨酸积累途径的信号传导。脯氨酸含量 T<sub>5</sub> 处理 > T<sub>4</sub> 处理,表明水分胁迫下外源脱落酸可促进脯氨酸的积累,且 PLD/PLC 可能参与此途径的信号传导。新霉素硫酸盐短时间内可阻断 PIP<sub>2</sub> 水解,从而阻断 IP<sub>3</sub> 的合成,而 IP<sub>3</sub> 需通过激活 Ca<sup>2+</sup> 库中的 Ca<sup>2+</sup> 从而进一步激活其他第二信使,调控基因表达,故水分胁迫下脱落酸对渗透调节物质的调节可能通过其他第二信使起作用。同 1 天中抗旱性强的“鲁玉 14”各处理比抗旱性弱的“掖单 13”各处理游离脯氨酸含量略低,但 2 品种间差异未达显著水平,表明品种间抗旱性与脯氨酸积累量并无相关关系,逆境下脯氨酸积累量不宜作为抗性指标。PEG-6000 与各药剂处理后几天内脯氨酸含量一直呈上升趋势。水分胁迫下脯氨酸积累的信号传递途径见图 2。

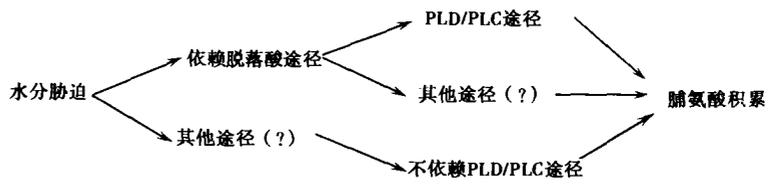


图 2 水分胁迫下脯氨酸积累的信号传递途径

Fig.2 The signal transduction routes of the proline accumulation under water stress

### 2.2 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系可溶性糖积累中的信号作用

图 3 表明 100g/kg 浓度 PEG-6000 模拟水分胁迫下,加入脱落酸抑制剂的 T<sub>2</sub> 处理玉米幼苗根系可溶性糖含量低于 T<sub>1</sub> 处理,表明水分胁迫下内源脱落酸可促进可溶性糖的积累。处理后 3d“掖单 13”T<sub>2</sub> 处理较 T<sub>1</sub> 处理分别下降 93%、93.7% 和 126%，“鲁玉 14”分别下降 95.6%、63.1% 和 95.7%。处理第 3d“掖单 13”

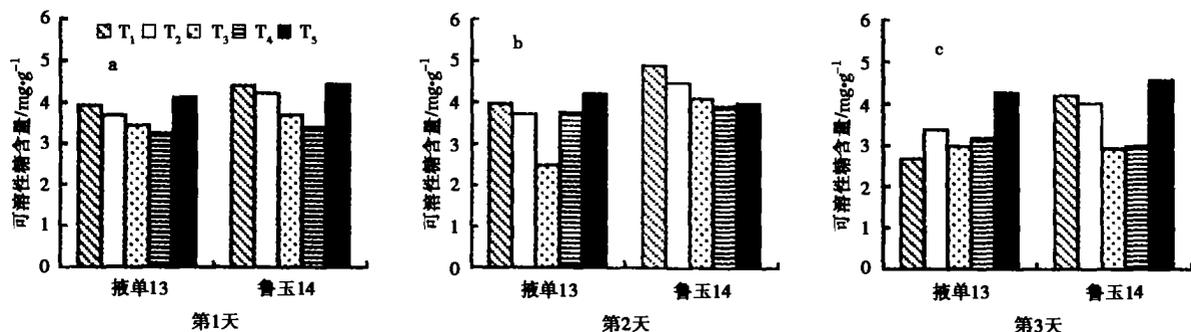


图 3 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系可溶性糖积累中的作用

Fig.3 Effects of ABA and PLD/PLC on the soluble sugars accumulation in roots of maize seedlings under water stress

T<sub>2</sub> 处理玉米幼苗根系可溶性糖含量大于 T<sub>1</sub>, 表明除内源脱落酸可促进可溶性糖积累外还存在其他途径可促进可溶性糖的积累。T<sub>3</sub> 处理玉米幼苗根系可溶性糖积累水平明显高于 T<sub>2</sub> 处理, 进一步说明外源脱落酸可促进水分胁迫下可溶性糖的积累, 处理后 3d T<sub>2</sub> 处理“掖单 13”幼苗根系可溶性糖含量比 T<sub>3</sub> 处理分别下

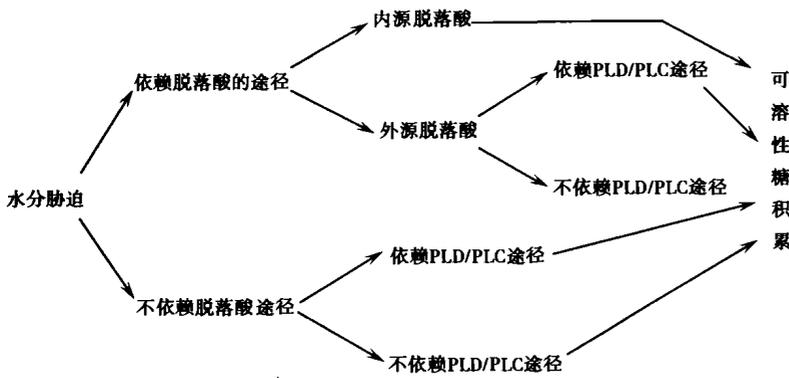


图 4 水分胁迫下可溶性糖积累的信号传递途径

Fig.4 The signal transduction routes of the soluble sugars accumulation under water stress

降 89%、88.5% 和 79.4%，“鲁玉 14”分别下降 95%、61.8% 和 87%。T<sub>3</sub> 处理玉米幼苗根系可溶性糖含量小于 T<sub>2</sub>, 说明无脱落酸存在时水分胁迫下可溶性糖积累的信号可由 PLD/PLC 途径传递, 处理后 3d T<sub>3</sub> 处理比 T<sub>2</sub> 处理“掖单 13”幼苗根系可溶性糖含量分别下降 93.5%、66.8% 和 88%，“鲁玉 14”分别降低 88%、120% 和 72.8%。处理第 2d “鲁玉 14”T<sub>3</sub> 处理幼苗根系可溶性糖含量大于 T<sub>2</sub>, 说明也可能存在不依赖 PLD/PLC 信号传递的其他途径, 或由于

其他原因造成。T<sub>4</sub> 处理玉米幼苗根系可溶性糖含量大于 T<sub>3</sub>, 表明无内源脱落酸存在或内源脱落酸含量很低下外源脱落酸可促进可溶性糖的积累, 且此信号可由 PLD/PLC 途径传递, T<sub>4</sub> 处理玉米幼苗根系可溶性糖含量小于 T<sub>3</sub> 处理, 表明水分胁迫下可溶性糖的积累存在不依赖脱落酸途径, 且此信号不经过 PLD/PLC 途径传递, 此间可能存在其他信号物质与其他途径。不同抗旱性 2 品种可溶性糖含量无显著差异, 水分胁迫处理后几天内 2 品种可溶性糖的积累一直呈上升趋势。水分胁迫下可溶性糖积累的信号传递途径见图 4。

2.3 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系游离氨基酸积累中的信号作用

由图 5 可知 T<sub>2</sub> 与 T<sub>1</sub> 处理玉米幼苗根系游离氨基酸含量相差较小, 表明内源脱落酸不能促进水分胁迫下

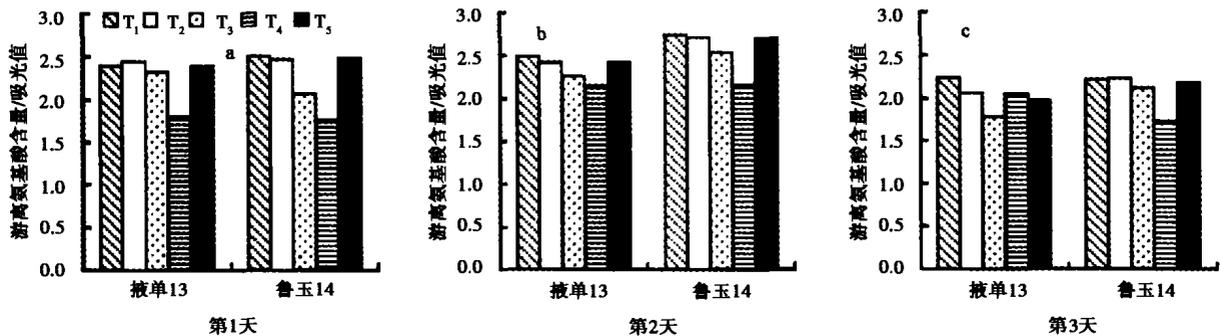


图 5 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系游离氨基酸积累中的作用

Fig.5 Effects of ABA and PLD/PLC on the amino acid accumulation in roots of maize seedlings under water stress

游离氨基酸的积累, 游离氨基酸在水分胁迫下的增加可能通过其他不依赖脱落酸的途径。T<sub>2</sub> 与 T<sub>3</sub> 处理玉米幼苗根系游离氨基酸含量相差较小, 说明水分胁迫下外源脱落酸也不能促进游离氨基酸的积累, 进一步说明游离氨基酸的积累肯定存在于不依赖脱落酸的其他途径。T<sub>3</sub> 处理玉米幼苗根系游离氨基酸含量

低于 T<sub>2</sub> 处理, “掖单 13”与“鲁玉 14”处理后 3d T<sub>3</sub> 处理比 T<sub>2</sub> 处理“掖单 13”分别下降 72.7%、95% 和 95%，“鲁玉 14”分别下降 76.6%、84.9% 和 93.7%, 该结果表明 PLD/PLC 参与了水分胁迫下游离氨基酸积累的信号传递。水分胁迫下游离氨基酸积累的信号传递途径见图 6。



图 6 水分胁迫下游离氨基酸的信号传递途径

Fig.6 The signal transduction routes of the amino acid accumulation under water stress

2.4 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系 Ca<sup>2+</sup> 积累中的信号作用

由图 7 可知, 加入脱落酸抑制剂的 T<sub>2</sub> 处理玉米幼苗根系 Ca<sup>2+</sup> 积累低于 T<sub>1</sub> 处理, 说明 100g/kg PEG-6000 模拟水分胁迫下脱落酸在 Ca<sup>2+</sup> 积累中起一定作用, 可能是脱落酸与质膜上脱落酸受体结合, 激活 G 蛋白, G 蛋白再进一步激活磷脂酶活性, 磷脂酶通过 IP<sub>3</sub> 启动细胞器钙库释放 Ca<sup>2+</sup>。T<sub>3</sub> 处理玉米幼苗根

系  $\text{Ca}^{2+}$  积累低于  $T_2$  处理,表明 100g/kgPEG-6000 模拟水分胁迫下外源脱落酸在  $\text{Ca}^{2+}$  积累中不起作用。内源与外源脱落酸在激活  $\text{Ca}^{2+}$  方面作用不同的原因可能是因内外源脱落酸激活  $\text{Ca}^{2+}$  的量不同所致,但可通过  $\text{Ca}^{2+}$  的不同形式起相同或不同作用。 $T_3$  处理玉米幼苗根系  $\text{Ca}^{2+}$  积累大于  $T_2$  处理,表明无内源与外源脱落酸下,即在不依赖脱落酸途径中 PLD/PLC 不起信号传递作用。 $T_4$  处理玉米幼苗根系  $\text{Ca}^{2+}$  积累大于  $T_5$  处理,进一步说明不依赖脱落酸途径中 PLD/PLC 不起信号传递作用。

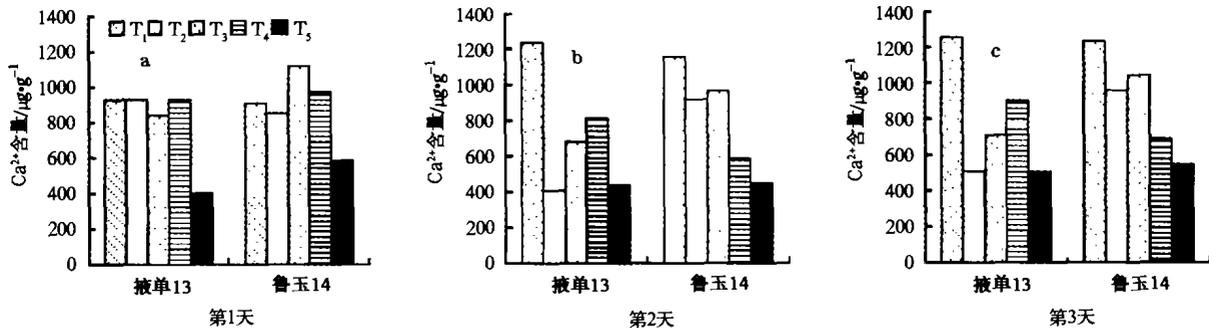


图7 水分胁迫下脱落酸与磷脂酶在玉米幼苗根系  $\text{Ca}^{2+}$  积累中的作用

Fig.7 Effects of ABA and PLD/PLC on the  $\text{Ca}^{2+}$  accumulation in roots of maize seedlings under water stress

### 3 小结与讨论

植物细胞感受胁迫信号后大致经 2 条胞内信号传导途径实现对基因表达的调节,一条为依赖脱落酸的信号传导途径,另一条为不依赖脱落酸的信号传导途径。质膜外侧和细胞内均可能存在脱落酸受体,若脱落酸作用于质膜表面的受体,则被激活的受体可能进一步作用于结合在质膜上的 G 蛋白(GTP 结合蛋白),并经后者激活磷脂酶活性,通过肌醇三磷酸系统刺激胞内  $\text{Ca}^{2+}$  库释放  $\text{Ca}^{2+}$  [4]。脱落酸可直接作用于质膜上的非选择阳离子通道,促进胞外  $\text{Ca}^{2+}$  流入胞内。而胞内脱落酸的可能作用机制是直接影响质膜  $\text{H}^+$ -ATPase (质膜内侧)活性,从而直接影响跨膜质子总化学势梯度,并通过影响胞质 pH 使胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度发生变化。磷脂酶活性及其基因表达均能被干旱强烈诱导[5]。磷脂酶水溶性产物  $\text{IP}_3$  进入胞质后激发  $\text{Ca}^{2+}$  释放,进一步调节  $\text{Ca}^{2+}$  或 CaM 依赖性酶活性及其相关信号传导途径[6]。磷脂酶另一产物 DAG 通过激活 PKC,以磷酸化形式对许多蛋白质和酶类进行修饰,从而调节和控制其他生理过程。磷脂酶活性受 G 蛋白的作用、 $\text{Ca}^{2+}$  对磷脂酶活性的影响及磷酸化 3 方面调节。一般认为脱落酸调节基因表达顺序为胁迫→脱落酸合成→胁迫诱导基因 mRNA 增加→基因表达产物积累→生理生化反应→抗性提高。PEG-6000 模拟水分胁迫条件下各渗透调节物质均有不同程度增加,加入 PLD/PLC 抑制剂后,水分胁迫下脱落酸可促进脯氨酸、可溶性糖、 $\text{Ca}^{2+}$  的积累,但不能促进游离氨基酸、 $\text{K}^+$  的积累,且 PLD/PLC 可能在脯氨酸、可溶性糖和游离氨基酸积累过程中起一定作用,但在  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  积累过程中不起作用。水分胁迫条件下脱落酸对渗透调节物质的调节也可能通过其他第二信使起作用。PLD/PLC 的激活与  $\text{Ca}^{2+}$  浓度有关,关于 PLD/PLC 在脱落酸与渗透调节物质之间信号传递中的作用机制尚需进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Chandler P. M., Robertson M. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol and Plant Mol. Biol.*, 1994, 45: 113~141
- 2 Xuemin Wang. The role of phospholipase D in signal cascades. *Plant Physiology*, 1999, 120: 645~651
- 3 Wang X. Plant phospholipases. *Annu. Rev. Plant Physiol and Plant Mol. Bio.*, 2001, 52: 211~231
- 4 Blatt M. R., Grabov A. Signalling gates in abscisic acid-mediated control of guard cell ion channels. *Physiol Plant*, 1997, 100: 481~490
- 5 Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol*, 1997, 115: 327
- 6 Berridge Michael J. Inositol triphosphate and caluim signaling. *Nature*, 1993, 361: 315~325