

文章编号:1000-8551(2013)6-0848-06

NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 依赖 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号调控马铃薯花青素积累马廷蕊<sup>1,2</sup> 张金文<sup>1,2</sup> 梁慧光<sup>1,2</sup> 柳永强<sup>3</sup> 王金虎<sup>1</sup>(1 甘肃农业大学农学院,甘肃 兰州 730070; 2 甘肃省干旱生境作物学重点实验室,  
甘肃 兰州 730070; 3 甘肃农业科学院马铃薯研究所,甘肃 兰州 730070)

**摘要:**以不同块茎颜色马铃薯品种陇薯 8 号、陇薯 7 号、LC310-2 和山东彩肉为材料,研究外源 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对马铃薯块茎花青素合成及其信号物质 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和 CaM 的影响。结果表明:外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,4 个基因型马铃薯薯皮和薯肉花青素积累, Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性升高, CaM 含量增加,其效果为 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> > H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> > NO > 水(CK),并且花青素的积累量与 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和 CaM 含量均呈正相关,其平均决定系数达 0.9194 和 0.8859。说明 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯花青素合成具有一定的促进作用,而细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号发挥了 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯花青素合成诱导的信号调节。

**关键词:**彩色马铃薯; NO; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号; 花青素

花青素是一类广泛存在于植物体的水溶性天然色素,常与各种单糖形成花色苷,因吸光性差异而表现不同颜色,具有抗氧化、抗突变、抗增生、保护肝脏、抑制肿瘤细胞发生等多种生理功能<sup>[1-2]</sup>。NO 作为植物次生代谢中的主要信号分子,通过细胞 ROS 反应或 Ca<sup>2+</sup> 信号系统参与多种植物次生代谢的诱导与信号转导<sup>[3]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是植物 ROS 反应中的关键分子,参与细胞逆境应答信息传递,对植物次生代谢合成具有调控作用<sup>[4]</sup>。植物细胞内 Ca<sup>2+</sup> 被认为是植物传递各种生物信息的重要信号,而 CaM 是细胞中 Ca<sup>2+</sup> 信号的感受器和 Ca<sup>2+</sup> 发挥信使作用的最主要途径<sup>[5]</sup>,它与 Ca<sup>2+</sup> 结合后产生活性,具有调节酶活性、促进次生代谢反应、启动基因表达等生理功能<sup>[6-7]</sup>。在植物次生代谢中, Ca<sup>2+</sup>/CaM、NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组成复杂的信号网络<sup>[8-9]</sup>,NO 激活鸟苷酸环化酶(sGC)产生 cGMP 和 ROS 反应,从而激活 Ca<sup>2+</sup> 通道,并且外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理能诱导花青素合成的相关酶苯丙氨酸解氨酶 PAL、多酚氧化酶 PPO 和查尔酮异构酶 CHI 合成及使其活性提高<sup>[2]</sup>。本文探讨了 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯花青素积累的影响及其与 Ca<sup>2+</sup> 信号之间的关系,为鲜食保健马铃薯育种和花青素合成的信号调控机理提供参考。

## 1 材料与方 法

## 1.1 试验材料

陇薯 8 号(L8),薯皮白色,薯肉白色;陇薯 7 号(L7),薯皮黄色,薯肉淡黄色;LC310-2(LC),薯皮粉红色,薯肉淡红色,由甘肃农业科学院马铃薯研究所提供,山东彩肉(SD),薯皮黑紫色,薯肉紫色,从山东省泰安农业局引进。

## 1.2 盆栽与处理

试验材料为 2010 年 10 月中旬采收的脱毒微型薯,3~5℃ 冷藏至 2011 年 4 月中旬,选择薯形均匀,无病虫害和机械损伤,单粒重 8~12g 的马铃薯块茎,用 0.067 mol·L<sup>-1</sup> 的次氯酸钠浸泡消毒 1h,蒸馏水漂洗后晾干,置温度 15℃、相对湿度 65% 的条件下备用。

试验前将马铃薯块茎分 5 组编号,喷洒 40% 氯乙醇液催芽,选择芽长均一,约 0.15cm 的壮芽整薯盆栽。盆栽容器为口径 15cm × 15cm、高 20cm 的方形塑料盆;栽培基质为蛭石、草炭和黄绵土 1:1:2 混合;土样均配施 5g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 3.8g 尿素 + 1.2g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 6g 油渣沫;播种为单株播种,播深 7cm;水分管理为每次浇晾晒自来水 50mL,7d 1 次,保持生育期基质半

收稿日期:2012-10-26 接受日期:2012-03-31

基金项目:国家“973”计划(2010CB134404);甘肃省自然科学基金(101012JZA194)

作者简介:马廷蕊(1984-),女,甘肃兰州人,硕士研究生,主要研究方向为作物遗传与细胞工程。Tel:15095326689,E-mail:potatos@126.com

通讯作者:张金文(1958-),男,甘肃武威人,博士,教授,主要研究方向为作物遗传与生物化学。Tel:13609377489,E-mail:jwzhang305@163.com

湿润。选择出苗高度与粗壮程度一致的盆栽苗,苗高约 10cm 时处理:水 (CK), 0.1mmol·L<sup>-1</sup> SNP (S), 0.25mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (H), 0.1mmol·L<sup>-1</sup> SNP + 0.25mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (SH)。处理每隔 7d 1 次,重复 3 次。

### 1.3 指标测定和数据处理

1.3.1 花青素含量测定 称取马铃薯薯皮和薯肉薄片 2.5g,室温下用 1% 盐酸-甲醇溶液提取,提出后暗置 24h,10 000g 离心 5min,取上清液,测其在 530、620 和 650nm 下的吸光值,花青素吸光值按  $OD_{530} - 0.9 \times OD_{620} - 0.1 \times OD_{650}$  计算<sup>[2]</sup>。

1.3.2 CaM 含量测定 称取马铃薯薯皮和薯肉薄片 10g,加液氮研磨匀浆,按 1:2 (W/V) 加入预冷细胞裂解液[50mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 值 7.4),50mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 2mmol·L<sup>-1</sup> EDTA,1mmol·L<sup>-1</sup> PMSF,1mmol·L<sup>-1</sup> β-巯基乙醇,1% (W/W) Triton X-100],超声波破碎细胞,95℃煮沸 5min,10 000g 4℃低温离心 20min,上清液为 CaM 粗提液。采用 ELISA 法测定 CaM 含量,按照钙调素 ELISA 检测试剂盒说明,用酶标仪测 450nm 下样品液的吸光值,对照标样计算 CaM 含量<sup>[10]</sup>。

1.3.3 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性测定 称取马铃薯薯皮和薯肉薄片 10g,液氮速冻,加 5mL 提取液(5mmol·L<sup>-1</sup> EDTA,5mmol·L<sup>-1</sup> DDT,80mmol·L<sup>-1</sup> Tirs,5% 甘油,1mmol·L<sup>-1</sup> PMSF,10mmol·L<sup>-1</sup> 维生素,250mmol·L<sup>-1</sup> 蔗糖,pH 值 8.9)研磨,4 层纱布过滤,滤液在 10 000g 离心 20min,上清液为粗酶液。将粗酶液与反应介质

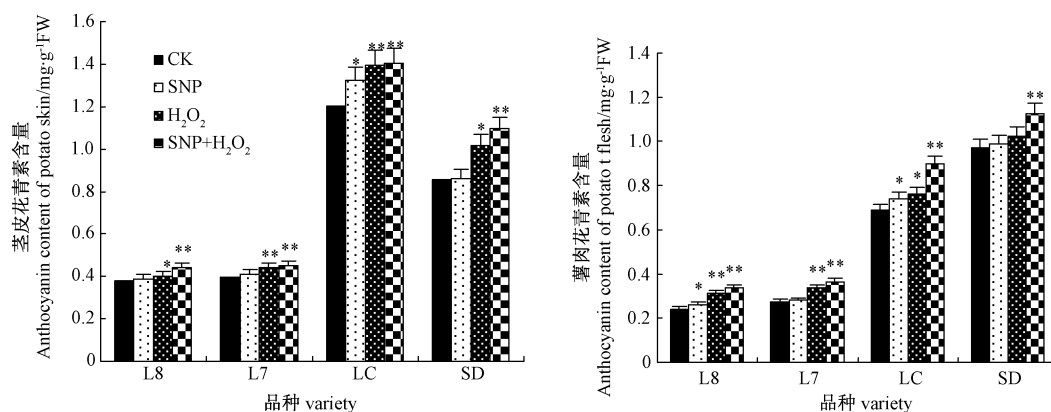
[100mmol·L<sup>-1</sup> Tirs-HCl (pH 值 7.0),50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl,0.002mmol·L<sup>-1</sup> EDTA,5mmol·L<sup>-1</sup> DDT,0.01% Triton-X100,80mmol·L<sup>-1</sup> Tirs,5% 甘油,1mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>]按 1:5 (V/V),37℃反应 10min,加 20% TCA 终止反应,测定释放出的无机磷量,则 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性 [μmmol Pi(mg Pro·min)<sup>-1</sup>]为每 1min 每 1mg 蛋白所释放的无机磷的量<sup>[11]</sup>。

数据用 Microsoft Excel 软件进行数据处理,用 SPSS 13.0 进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对不同颜色马铃薯块茎花青素含量的影响

外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,4 种彩色马铃薯薯皮和薯肉花青素含量均有一定程度的升高,其作用效果表现为 0.1mmol·L<sup>-1</sup> SNP + 0.25mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> > 0.25mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> > 0.1mmol·L<sup>-1</sup> SNP > 水 (CK) (图 1)。其中 0.1mmol·L<sup>-1</sup> SNP + 0.25mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理使 4 种马铃薯块茎花青素含量差异极显著,处理使 L8、L7、LC 和 SD 薯皮花青素含量分别增加 15.02%、33.33%、17.23%、40.65%,薯肉花青素含量增加 40.66%、32.73%、30.52%、16.05%;0.25mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理使 4 种马铃薯块茎花青素含量差异显著;0.1mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理使 4 种马铃薯块茎花青素含量升高,其部分指标差异不显著。说明 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯块茎花青素的合成具有促进作用。



注: \*\*表示  $\alpha = 0.01$  水平差异显著, \* 表示  $\alpha = 0.05$  水平差异显著。

Note: \*\* show significant difference at  $\alpha = 0.01$  level, \* show significant difference at  $\alpha = 0.05$  level.

图 1 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对彩色马铃薯块茎花青素积累影响

Fig. 1 Effects of NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on anthocyanin accumulation of potato tuber

表1 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对彩色马铃薯块茎细胞 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和 CaM 含量影响Table 1 Effects of NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity and CaM content of potato tuber

品种 Variety		Ca <sup>2+</sup> -ATPase 活性 Ca <sup>2+</sup> -ATPase activity/( $\mu\text{mol Pi}\cdot\text{mg}^{-1}\text{Pro}\cdot\text{min}^{-1}$ )				CaM 含量 CaM content/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )			
		CK	S	H	SH	CK	S	H	SH
		L8	薯皮	1.23Aa	1.31ABb	1.42Bc	1.68Cd	4.24Aa	4.59ABb
	薯肉	0.87Aa	0.92Aab	0.97ABb	1.03Bc	3.13Aa	3.21Aa	3.68Bb	4.11Bc
L7	薯皮	3.16Aa	3.44ABb	3.70Bc	3.98Bc	7.56Aa	8.17ABb	8.21ABb	8.98Bc
	薯肉	1.83Aa	1.96Ab	2.07Abc	2.16Bc	5.77Aa	6.19ABb	6.74BCc	7.41Cd
LC	薯皮	3.28Aa	3.54Ab	4.11Bc	4.48Bd	6.88Aa	7.03Aa	7.68ABb	8.42Bc
	薯肉	2.35Aa	2.55Ab	2.68Abc	2.79Bc	5.24Aa	5.71Ab	6.64Bc	7.28Bd
SD	薯皮	4.64Aa	4.71Aa	5.07ABb	5.48Bc	9.73Aa	10.55ABb	10.64ABb	11.43Bc
	薯肉	4.03Aa	4.22Aab	4.41ABb	4.81Bc	9.54Aa	9.97Aab	10.40Ab	11.08Bc

注:大写字母表示  $\alpha=0.01$  水平差异显著,小写字母表示  $\alpha=0.05$  水平差异显著。

Note: Uppercase letters show significant difference at  $\alpha=0.01$  level, lowercase letters show significant difference at  $\alpha=0.05$  level.

## 2.2 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对不同颜色马铃薯块茎细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号物质的影响

2.2.1 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对不同颜色马铃薯块茎 CaM 含量的影响 外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,4 种彩色马铃薯薯皮和薯肉 CaM 含量均有一定程度的升高,其作用效果表现为  $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP} + 0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2 > 0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2 > 0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP} > \text{水(CK)}$ (表1)。其中  $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP} + 0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$  处理使 4 种马铃薯块茎 CaM 含量差异极显著,处理使 L8、L7、LC 和 SD 薯皮 CaM 含量分别增加 32.24%、18.78%、19.77%、17.47%,薯肉 CaM 含量增加 31.31%、28.42%、38.93%、16.14%; $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$  处理使 4 种马铃薯块茎 CaM 含量差异显著; $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP}$  处理使 4 种马铃薯块茎 CaM 含量升高,部分差异不显著。说明 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯块茎 CaM 的合成具有促进作用。

2.2.2 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对不同颜色马铃薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的影响 外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,4 种彩色马铃薯薯皮和薯肉 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性均有一定程度的升高,其作用效果表现为  $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP} + 0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2 > 0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2 > 0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP} > \text{水(CK)}$ (表1)。其中  $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP} + 0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$  处理使 4 种马铃

薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性差异极显著,处理使 L8、L7、LC 和 SD 薯皮 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性分别增加 36.59%、25.95%、36.59%、18.10%,薯肉 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性增加 18.39%、18.03%、18.72%、19.35%; $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$  处理使 4 种马铃薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性差异显著; $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{SNP}$  处理使 4 种马铃薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性升高,部分指标差异性不显著。说明 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 激活具有促进作用。

## 2.3 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,彩色马铃薯块茎花青素含量与细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号物质的相关性分析

外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,以马铃薯块茎花青素含量为自变量,分别以与之相对应的 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和 CaM 含量为因变量,用线性方程  $y = ax + b$  进行拟合,分析在外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用下,马铃薯块茎细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号物质与花青素积累的相关性(表2)。数据显示,外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,4 种基因型马铃薯 L8、L7、LC 和 SD 块茎花青素含量与 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和 CaM 含量呈正相关,其平均决定系数达 0.9194 和 0.8859。说明在 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的马铃薯花青素代谢途径中,Ca<sup>2+</sup>/CaM 单独或整体作为中介体参与花青素合成的信号调节。

表 2 NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,马铃薯块茎花青素含量与其细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号物质变化相关性分析Table 2 With NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment, correlation analysis between anthocyanin content and Ca<sup>2+</sup>/CaM signal matters in cell of potato tuber

关联性分析 Correlation analysis		Ca <sup>2+</sup> -ATPase 活性 Ca <sup>2+</sup> -ATPase activity		CaM 含量 CaM content	
		薯皮 Skin	薯肉 Flesh	薯皮 Skin	薯肉 Flesh
L8	方程	$y = 10.513x - 1.2181$	$y = 1.5107x + 0.5113$	$y = 42.005x - 5.5311$	$y = 9.9809x + 0.6505$
	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> = 0.8408	R <sup>2</sup> = 0.9743	R <sup>2</sup> = 0.8208	R <sup>2</sup> = 0.9635
L7	方程	$y = 7.9481x + 0.7121$	$y = 3.027x + 1.0379$	$y = 12.635x + 3.6879$	$y = 15.694x + 1.5877$
	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> = 0.9993	R <sup>2</sup> = 0.8968	R <sup>2</sup> = 0.9202	R <sup>2</sup> = 0.9426
LC	方程	$y = 6.9090x - 3.8114$	$y = 1.9024x + 1.1234$	$y = 9.1178x - 2.6114$	$y = 9.4587x - 1.0870$
	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> = 0.9221	R <sup>2</sup> = 0.8081	R <sup>2</sup> = 0.9582	R <sup>2</sup> = 0.8502
SD	方程	$y = 1.6495x + 2.5362$	$y = 4.6636x - 0.4255$	$y = 2.8043x + 6.4414$	$y = 6.3078x + 3.6647$
	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> = 0.9506	R <sup>2</sup> = 0.9632	R <sup>2</sup> = 0.8465	R <sup>2</sup> = 0.7853
决定系数 R <sup>2</sup>		0.9194		0.8859	

### 3 讨论与结论

#### 3.1 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对马铃薯花青素代谢作用

在马铃薯块茎中,花青素含量除受遗传因子决定外,多样的信号分子与植物生长调节剂 NO、ALA、GNT、SA、MeJA、ABA、GA 对花青素代谢具有较大的调节作用<sup>[12]</sup>。NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作为植物逆境胁迫和生理生化代谢的重要信号分子,在植物次生代谢启动以及植物酶蛋白活性调控方面有重要作用<sup>[2,13-14]</sup>。研究表明,外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,马铃薯花青素含量升高,同时,与之相关的结构蛋白 PAL、PPO 和 CHS 活性提高,并且,花青素的积累与结构蛋白活性提高相吻合,说明 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 通过诱导其结构蛋白活性促进花青素积累<sup>[2]</sup>。本次盆栽试验发现,外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理诱导了 4 种基因型马铃薯花青素含量升高,这与前期大田试验结果一致。

#### 3.2 外源信号诱导马铃薯花青素合成的 Ca<sup>2+</sup> 依赖途径

Ca<sup>2+</sup> 除了本身能诱导植物花青素合成与积累,也作为一种重要的信号分子,调控环境因子、外源化学物质和金属离子等对植物花青素合成的诱导。Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶受 Ca<sup>2+</sup>、CaM 等多种信号分子的调节<sup>[12]</sup>,近年来,大量的研究表明,钙信使系统参与了果实成熟与着色过程<sup>[15]</sup>,周开兵等<sup>[14]</sup>用 0.2% 的 CaCl<sub>2</sub> 溶液对红荔枝枝叶面喷施后,其果皮花色素苷含量较对照增加了 21%。Wang 等<sup>[17]</sup>研究钙和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶低温下诱导五色苋花青素合成,结果表明花青素含量的增加与 CaM 含量、Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性呈正相关;Govindaswamy

等<sup>[18]</sup>研究发现 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶参与胡萝卜愈伤组织花青素的积累,花青素合成受钙和钙通道蛋白调节的影响。本研究发现,外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理彩色马铃薯,4 种不同基因型马铃薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性升高,CaM 含量增加,花青素积累,且花青素含量与 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性及 CaM 含量呈显著正相关,说明 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 依赖 Ca<sup>2+</sup>/CaM 途径诱导马铃薯花青素积累。

#### 3.3 细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 介导 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导马铃薯花青素的合成

在 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用的信号途径中,NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可以通过 ROS 途径调控细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 系统功能启动,也可以通过 MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)和 G 蛋白等途径诱导 Ca<sup>2+</sup>/CaM 信号物质含量变化,或直接诱导 Ca<sup>2+</sup>/CaM 途径发生<sup>[3-4,19]</sup>。NO 可能引起胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流和胞内 Ca<sup>2+</sup> 的增加<sup>[3]</sup>,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是 ROS 的一种,ROS 能诱导钙信号系统启动<sup>[20]</sup>。本试验发现,外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用上调了马铃薯块茎 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性和 CaM 蛋白含量,进而促进其花青素合成与积累。由此,我们可以提出一个假说:外源 SNP 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后,促进活性氧代谢加剧,细胞膜离子渗漏增强,胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流,膜上 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性提高,增强了 Ca<sup>2+</sup> 跨膜运输与 Ca<sup>2+</sup>/CaM 结合概率,从而活化了花青素调节蛋白活性,花青素合成量增加,即细胞 Ca<sup>2+</sup>/CaM 介导 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的马铃薯花青素合成。

本研究是在马铃薯盆栽模式下,用外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理,测定马铃薯块茎花青素含量、CaM 含量、Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性和相关性分析,结合前期试验 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对花青素合成相关酶类 PAL、PPO 和 CHI 活性影

响的研究。阐述了  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  在介导 NO 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导马铃薯花青素的合成代谢中的信号功能,证实了 NO 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  具有调控花青素合成功能的判断。然而,本试验研究材料仅集中于马铃薯块茎,数据也仅限于  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶和 CaM 方面,因此,NO 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导马铃薯花青素合成的信号转导机制以及  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  在其中的功能,还有待进一步深入探究。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Ma T R, Zhang J W, Liang H G, Liu Y Q. Plant anthocyanin synthesis and gene regulation [ J ]. Agricultural Science and Technology, 2012, 13(3): 507 - 511, 540
- [ 2 ] 马廷蕊, 张金文, 梁慧光, 柳永强. 外源 NO 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导不同颜色马铃薯花青素积累[J]. 中国蔬菜, 2012, (16): 63 - 67
- [ 3 ] 徐茂军. 一氧化氮:植物细胞次生代谢信号转导网络可能的关键节点[J]. 自然科学进展, 2007, 17(12): 1622 - 1630
- [ 4 ] 李师翁, 薛林贵, 冯虎元, 徐世键, 安黎哲. 植物中的  $\text{H}_2\text{O}_2$  信号及其功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2007, 23(10): 804 - 810
- [ 5 ] 赵士诚, 孙静文, 王秀斌, 汪洪, 梁国庆, 周卫. 镉对玉米苗中钙调蛋白含量和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(2): 264 - 271
- [ 6 ] Biro R L, Sun D Y, Serlin B S, Terry M E, Datta N, Sopory S K, Roux S J. Characterization of oat calmodulin and radioimmunoassay of its subcellular distribution[J]. Plant Physiology, 1984, 75: 382 - 386
- [ 7 ] Miller D, Hable W, Gottwald J, Ellard M, Demura T, Lomax T, Carpita N. Connections: The hard wiring of the plant cell for perception, signaling, and response[J]. Plant Cell, 1997, 9:2105 - 2117
- [ 8 ] Agarwal S, Sairam G C, Srivastava, Aruna T, Meena R C. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings[J]. Plant Science, 2005, 169(3): 559 - 570
- [ 9 ] Cécile C, Angélique Besson, Jennifer Dahan, Stéphane Bourque, Grazyna Dobrowolska, Alain Pugin, David Wendehenne. Nitric oxide signalling in plants: interplays with  $\text{Ca}^{2+}$  and protein kinases [ J ]. Journal of Experimental Botany. , 2008, 59(2): 155 - 163
- [ 10 ] 郭彩华, 刘静雯, 卢珍华, 詹玲玲. 钙调素 CaM 的纯化与鉴定 from *Prorocentrum donghaiense* Lu [ J ]. 集美大学学报: 自然科学版, 2009, 14(1): 29 - 34
- [ 11 ] 李扬瑞. 甘蔗叶片细胞器的  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性 [ J ]. 植物生理学通讯, 1987, (6): 20 - 21
- [ 12 ] 姜卫兵, 徐莉莉, 翁忙玲, 韩健. 环境因子及外源化学物质对植物花色苷的影响 [ J ]. 生态环境学报, 2009, 18(4): 1546 - 1552
- [ 13 ] 柳永强, 杨谋, 马廷蕊, 张勇. 外源 NO 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导马铃薯对盐碱土壤的适应 [ J ]. 土壤通报, 2012, (6): 1380 - 1384
- [ 14 ] 金青, 蔡永萍, 林毅, 魏奇. NO 对石斛类原球茎内源激素水平及生物碱积累的影响 [ J ]. 核农学报 2010, 24(6): 1291 - 1296
- [ 15 ] 樊秀彩, 关军锋, 刘崇怀, 张继澍. 草莓果实成熟过程中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性变化及酶学特性 [ J ]. 果树学报, 2003, 20(2): 99 - 103
- [ 16 ] 周开兵, 苏举, 徐远锋. 磷、钾和钙元素对三月红荔枝果皮着色影响 [ J ]. 中国土壤与肥料, 2007, (6): 54 - 57
- [ 17 ] Wang C Q, Zhang Y F, Tao L. Activity changes of calmodulin and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase during low-temperature-induced anthocyanin accumulation in *Alternanthera bettzickiana* [ J ]. Physiologia Plantarum, 2005, 124: 260 - 266
- [ 18 ] Sudha Govindaswamy, Ravishankar G A. The role of calcium channels in anthocyanin production in callus cultures of *Daucus carota* [ J ]. Plant Growth Regulation, 2003, 40: 163 - 169
- [ 19 ] 刘贯山, 陈珈. 钙依赖蛋白激酶 (CDPKs) 在植物钙信号转导中的作用 [ J ]. 植物学通报, 2003, 20(2): 160 - 167
- [ 20 ] Hu X, Jiang M, Zhang J, Zhang A, Lin F, Tan M. Calcium calmodulin is required for abscisic acid-induced antioxidant defense and functions both upstream and downstream  $\text{H}_2\text{O}_2$  production in leaves of maize [ J ]. New Phytologist, 2007, 173(1): 27 - 38

## Exogenous NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Dependent Signal Molecule Ca<sup>2+</sup> /CaM to Enhance Anthocyanin Accumulation of Potato Tuber

MA Ting-ru<sup>1,2</sup> ZHANG Jin-wen<sup>1,2</sup> LIANG Hui-guang<sup>1,2</sup> LIU Yong-qiang<sup>3</sup> WANG Jin-hu<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> College of Agriculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070; <sup>2</sup> Key Laboratory of Arid habitats Crop Science in Gansu, Lanzhou, Gansu 730070; <sup>3</sup> Potato Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070)

**Abstract:** Taking different colors potatoes (*Solanum tuberosum* L.) ‘Longshu No. 8’, ‘Longshu No. 7’, ‘LC310-2’ and ‘Shandongcairou’ as materials, this experiment studied on anthocyanin accumulation and related signal mater Ca<sup>2+</sup>-ATPase and CaM of potato tuber after treatment of water (CK), NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The results showed that, the anthocyanin accumulated in 4 gene-types potatoes, Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity increased, CaM content enhanced after exogenous NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatments. The inductive effect was NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> > H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> > NO > CK. Moreover, anthocyanin accumulation was related with Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity increasing and CaM content enhance, and its related index was 0.9194 and 0.8859. It indicated that NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> had a certain role in promoting the potato anthocyanin synthesis, and intracellular Ca<sup>2+</sup>/CaM signal play signal transduction in NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inducing potato anthocyanin synthesis.

**Key words:** Potato; NO; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; Signal Molecule Ca<sup>2+</sup>/CaM; Anthocyanins