

文章编号: 1005-0906(2007)03-0087-04

低钾胁迫对玉米自交系苗期部分信号分子的影响

刘延吉¹, 田晓艳², 曹敏建¹

(1. 沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161; 2. 辽宁石油化工大学环境与生物工程学院, 辽宁 抚顺 113001)

摘要: 研究在低钾胁迫下玉米苗期胞间和胞内部分信号分子的变化。玉米自交系 A(不耐低钾)和 B(耐低钾), 以 1/2Hoagland 溶液培养 12 d 后, 转入 3 个不同钾离子浓度 (5 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$, 1 000 $\mu\text{mol/L}$) 连续培养 50 d, 测定其胞间 ABA, IAA, GA, ZR 激素水平及胞内 CaM 含量、 PMCa^{2+} -ATPase 和 NADK 激酶活性。结果表明: 低钾条件下, ABA/GA、ABA/IAA、ABA/ZR 比值上升; 同时, 耐性品种 CaM 含量增加; 低钾诱导了 PMCa^{2+} -ATPase 和 NADK 响应, 耐性品种的 PMCa^{2+} -ATPase 和 NADK 活性高于非耐性品种。低钾条件下, (耐低钾自交系 B 通过胞间 ABA/GA、ABA/IAA、ABA/ZR 比值变化, 促进胞内 CaM 含量升高, 导致下游 PMCa^{2+} -ATPase 和 NADK 激酶活性升高), 通过改变胞内 Ca^{2+} 和 NADP/NAD 水平, 适应低钾胁迫。

关键词: 玉米; 低钾胁迫; 钙调素; 内源激素; NAD 激酶; 质膜 Ca^{2+} -ATP 酶

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

The Effect of Partial Signaling Molecule of Inbred Lines in Maize Seedling Under Low Potassium Stress

LIU Yan-ji¹, TIAN Xiao-yan², CAO Min-jian¹

(1. Biotechnology College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161;

2. Environmental Technology and Biotechnology college, Liaoning University of Petroleum & Chemical Technology, Fushun Liaoning 113001, China)

Abstract: The article studied the change of intercellular and intracellular partial signaling molecule in maize seedling under low potassium stress. Two inbred lines of maize, B which was tolerant to K^+ deficiency and A which was sensitive to K^+ deficiency, were cultured in 1/2Hoagland nutrient solutions for 12 days, then transplanted them into three different K^+ concentration (5 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$, 1 000 $\mu\text{mol/L}$) to continue cultured for 50 days. Assayed intercellular hormone content of ABA, IAA, GA, ZR and intracellular enzyme activity of PMCa^{2+} -ATPase and NADK, and also assay intracellular CaM content. The results showed that the ratio of ABA/GA, ABA/IAA and ABA/ZR increased, the CaM content of B increased under low K^+ concentration. It induced response of PMCa^{2+} -ATPase and NADK, these activities of ABA/GA, ABA/IAA and ABA/ZR of B were higher than those of A under low potassium stress. The results indicated that the ratio change of ABA/GA, ABA/IAA and ABA/ZR of intercellular signal improved intracellular CaM content, induced PMCa^{2+} -ATPase and NADK activities of downstream to increase. The increasing activities of PMCa^{2+} -ATPase and NADK influenced the content of Ca^{2+} and NADP/NAD in order to be adapted to low potassium stress.

Key words: Maize; Low potassium stress; CaM; Endogenous hormones; NADK; PMCa^{2+} -ATPase

近 30 年来,我国缺钾土壤已从南方沿海地区扩大到东北三省,约有 70% 的农作物耕地缺钾,钾肥缺乏成为制约我国农业生产水平的重要因子。钾肥

供应不足,有机肥用量呈下降趋势,同时,秸秆还田比例太小,引起农田中钾素严重亏缺。中国农业科学院土壤肥料研究所 1986~1990 年在山东、河北的定位试验表明,按一般用量施用有机肥、不施钾肥情况下,土壤中钾素每年每公顷亏缺 71.1~225 $\text{kg}^{[1]}$ 。根据我国肥料投入和农产品产出的推算,我国农田钾素亏缺每年约有 500 万 t 左右^[2]。

运用现代遗传育种技术,选育和推广耐低钾优

收稿日期: 2007-03-18

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(G1999011707)

作者简介: 刘延吉,男,博士,副教授,研究方向:细胞工程,细胞信号转导。Email: yanjiliu@yahoo.com.cn

曹敏建为本文通讯作者。

良品是缓解我国钾源短缺的最好途径,而且是高产、高效的生物学途径。在寻找耐低钾植物方面做了大量的科研探索,曹敏建、刘延吉等分别对耐低钾玉米、水稻等大田作物进行了研究^[3~5]。另外,专家研究指出,富钾植物子粒苋基因转移也是解决我国钾素短缺矛盾的重要途径。

在耐低钾玉米品种选育研究中,有关钾元素对光合作用的影响人们从不同层次进行了研究^[6~8]。已有的报道多集中在 RuBPCase、气孔阻力、叶绿素含量等方面^[9~11],但对耐低钾自交系的信号系统的研究尚无报导。本论文揭示耐低钾玉米的部分信号分子调控机制,为低钾耐性基因型在生产上的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

自交系玉米种子 A (713 不耐低钾胁迫品种)和 B(336 耐低钾胁迫品种),由沈阳农业大学农学院提供。(A 自交系为普通不耐低钾胁迫自交系;B 自交系是从 236 个自交系中,经过多年不断积累,筛选出

来的高耐低钾胁迫自交系。两自交系在耐与不耐低钾胁迫性状上稳定遗传。)

1.2 方法

用 0.1% HgCl₂ 消毒种子 10 min,无离子水浸泡 12 h,25℃ 昼/夜(30℃/25℃)萌发 2 d。1/2Hoagland 溶液培养,每 24 h 加氧 1 次,每 4 d 更换溶液 1 次,12 d 时将玉米苗转入 3 个钾离子浓度的培养盆(5 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$, 1 000 $\mu\text{mol/L}$) 梯度培养,4 周时将苗转入培养桶中,更换培养液与加氧方式同上。连续培养 50 d。在转入的第 0、3、10、25、50 天时,分别对其胞间信号 ABA、IAA、GA、ZR 和胞内 CaM、PMCa²⁺-ATPase、NADK 蛋白进行测定。实验地点在沈阳农业大学植物生理实验室进行。

2 结果与分析

2.1 低钾对不同激素比值的影响

生长发育不是由激素的绝对含量决定,而是由激素的相对含量决定,低 K 条件下,ABA/IAA、ABA/GA、ABA/ZR 比值升高,抑制地上生长,促进地下生长,调节低钾逆境反应(图 1、2、3)。

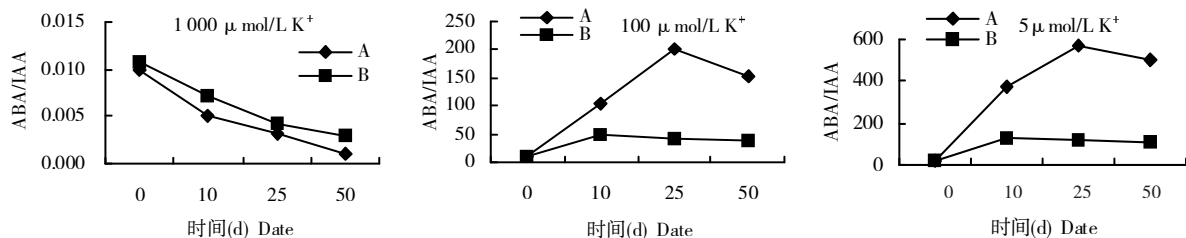


图 1 不同 K⁺ 浓度时 ABA/IAA

Fig.1 ABA/IAA in different concentration of K⁺

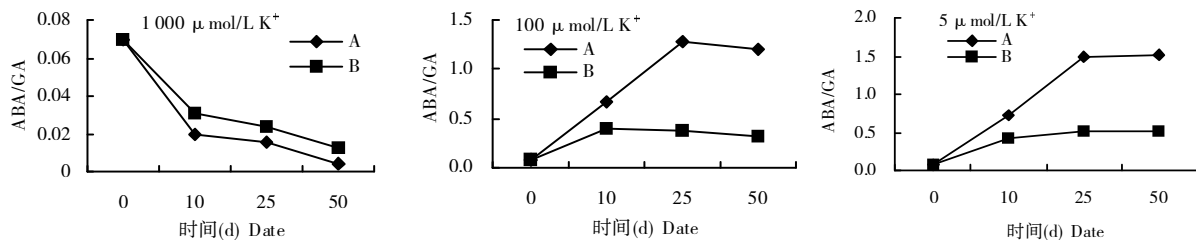


图 2 不同 K⁺ 浓度时 ABA/GA

Fig.2 ABA/GA in different concentration of K⁺

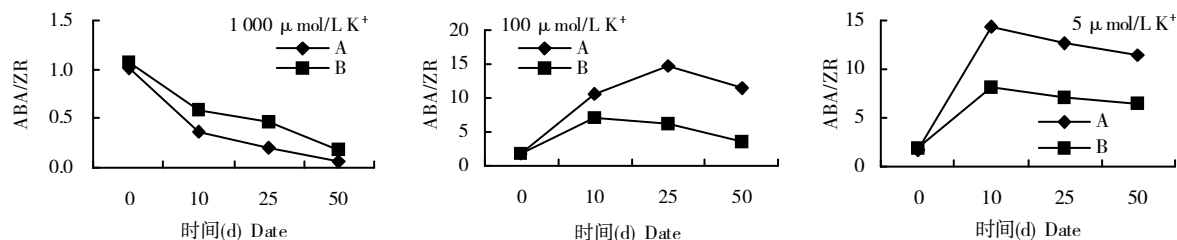


图 3 不同 K⁺ 浓度时 ABA/ZR

Fig.3 ABA/ZR in different concentration of K⁺

在 1 000 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,两自交系 ABA/IAA、ABA/GA、ABA/ZR 变化的趋势相同,随着时间的延长逐渐降低。其中不耐低钾品种降低的幅度高于耐低钾品种,这是因为不是缺钾培养,它们不受 K^+ 的胁迫,在其它环境因子相同的情况下,它们之间应只存在品种的差异。

在 100 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,不耐低钾品种(A)的 ABA/IAA、ABA/GA、ABA/ZR 比值迅速升高,然后维持在很高的水平;耐低钾品种(B)其相应比值增加的幅度显著低于不耐低钾品种,在第 25 天时两者相差分别为 3.9 倍、3 倍、3 倍。

在 5 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,两自交系 ABA/IAA、ABA/GA、ABA/ZR 迅速增高,然后维持非常高的水平,在第 50 天时,耐低钾品种的三相比值分别比不耐低钾品种低 3.3 倍、2.7 倍、2.7 倍左右。

2.2 低钾对钙调素含量的影响

在 1 000 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,两自交系钙调素含量的变化趋势相同,前期逐步下降,后期变化平稳。且没有显著差异,由于不缺钾,它们的钾吸收机制基本上相同,不受 K^+ 的胁迫,只存在品种的差异。

在 100 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,两自交系钙调素含量先升高,然后缓慢下降,而且钾浓度越低体内钙调素含量所达到的峰值越高,耐低钾品种 B 的钙调素含量始终明显高于不耐品种 A (18.35% ~ 48.8%),而且浓度越低其与不耐品种间的差异越显著,第 10 天时耐低钾品种体内钙调素含量比不耐品种高 18.35% ~ 33.54%,第 50 天时高 20% ~ 48.8%。这是因为耐低钾品种对低钾环境敏感,对逆境的反应迅速,体内钙调素含量大量增加,并参与调控植物抗逆反应,如调节酶的活性、调节蛋白质磷酸化和基因表达等,使植株可以正常生长(图 4)。

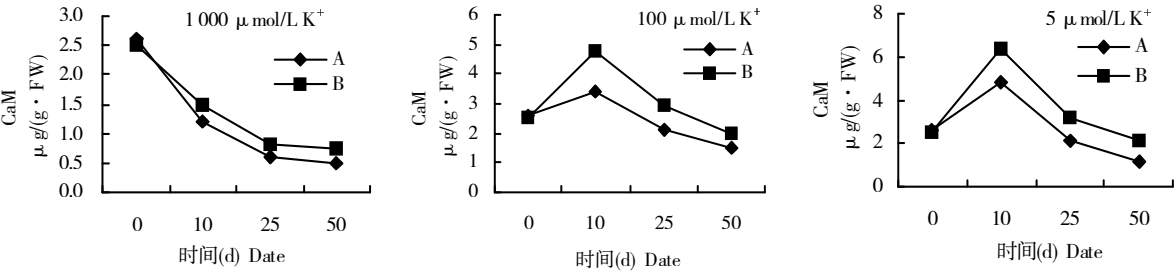


图 4 不同 K^+ 时的 CaM 含量

Fig.4 CaM content in different concentration of K^+

2.3 低钾对 PMCa^{2+} -ATPase 活性的影响

在 1 000 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下, Ca^{2+} -ATPase 活力变化趋势平稳中略有上升。品种间无明显差异。

在 100 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,不耐低钾 A 质膜 Ca^{2+} -ATPase 的活力迅速上升,而耐低钾 B 酶活力变化不显著,与 1 000 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下相似。A 对逆境的耐受能力小于 B,逆境时质膜 Ca^{2+} -ATPase 将细胞质内大量 Ca^{2+} 排出胞外,导致细胞质内的钙离子浓度过低,引起多种生理功能的失调。而耐低钾品

种 B 的质膜 Ca^{2+} -ATPase 活力升高不显著,细胞质内的钙离子浓度降低不显著,对生长影响不大。

在 5 $\mu\text{mol/L}$ K^+ 条件下,两个自交系质膜 Ca^{2+} -ATPase 活力迅速上升,然后维持在较高的水平,A 上升的幅度显著高于 B,第 50 天时的酶活力比耐低钾品种高 27.48% ~ 36.17%。极端逆境条件,即使耐低钾品种也不能正常生长,但由于其耐性较高,所以酶活力上升的幅度仍低于不耐低钾品种。

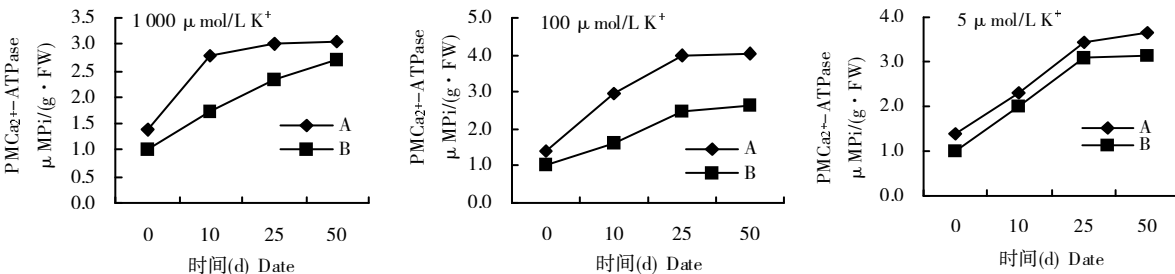


图 5 不同 K^+ 时的 PMCa^{2+} -ATPase 活力

Fig.5 PMCa^{2+} -ATPase activities in different concentration of K^+

2.4 低钾对 NADK 活性的影响

在 $1\,000\ \mu\text{mol/L K}^+$ 条件下, 两个自交系 NADK 激酶活力缓慢增加, B 略高于 A, 但耐与不耐品种间的差异不显著。它们的钾吸收机制基本上是相同, 在其它环境因子相同的情况下, 它们之间应只存在品种的差异。

在 $100\ \mu\text{mol/L K}^+$ 条件下, 2 个品种对低钾环境的适应能力表现出明显的不同, 耐性品种的 NADK

活力在前期迅速升高, 后期缓慢增加; 而不耐低钾品种的 NADK 活力也逐步增加, 但始终低于耐性品种, 第 50 天时品种 B 的 NADK 活力比 A 高 18.12%。

在 $5\ \mu\text{mol/L K}^+$ 条件下, 2 个品种的酶活力变化趋势与在 $100\ \mu\text{mol/L K}^+$ 条件下相似, 所达到的峰值略高于后者, 品种 B 的酶活力始终高于品种 A, 第 50 天时比品种 A 高 22.4%。

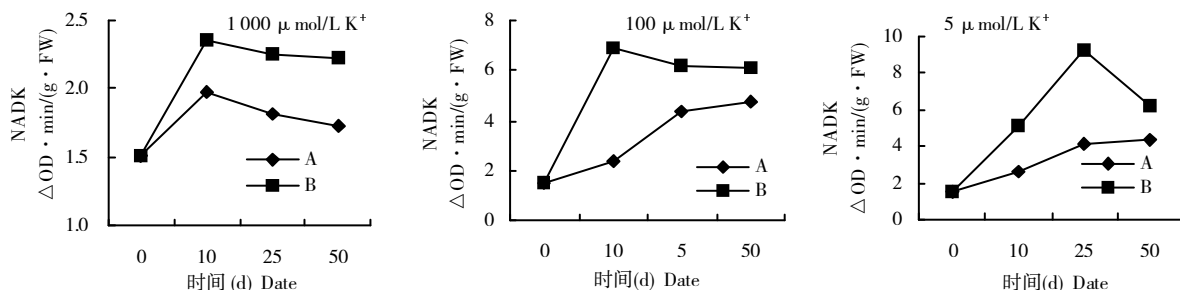


图 6 不同 K⁺ 时的 NADK 活力

Fig.6 NADK activities in different concentration of K⁺

在本实验中, B 对低钾环境敏感, 对逆境的反应迅速, 体内 NADK 激酶活力受钙调素调节而迅速增加, 参与植物的抗逆反应, 使植株可以正常生长; 而不耐低钾品种对低钾环境不敏感, 对逆境胁迫反应较慢或不反应, 体内酶活力增加较小, 对逆境的抵抗能力不强, 使植株的生长受到抑制。

3 结论与讨论

耐低钾玉米对低钾环境的适应机制可能是低钾条件下, 耐低钾自交系 B 通过调节胞间信号 A-BA/GA、ABA/IAA、ABA/ZR 比值变化而调节胞内信号系统, 同时, 通过调节胞内 CaM 含量, 导致下游一系列酶 PMCa²⁺-ATPase, NADK 激酶活性升高, 改变胞内 NADP/NAD 水平, 从而建立一个适合于植株生长的 Ca²⁺ 信号震荡平衡态, 抑制地上生长, 促进地下生长, 调节地上光合产物向地下运输, 对逆境做出整体反应, 协调环境生长与发育, 适应低钾逆境。

逆境条件下, ABA 含量相对提高, 导致不同激素间比值的变化。ABA/GA 比值提高, 抑制地上部分生长, 促进地下生长; ABA/IAA 比值的变化调节地下的根系分化; ABA/ZR 比值提高, 对防衰老、促进 DNA 复制、RNA 转录、蛋白质翻译具有一定的逆境适应作用^[12]。

钙调素(Calmodulin, CaM)是一种多功能的钙受体蛋白, 对植物生长发育起着关键性地调控作用, 即细胞内信号转导途径中第二信使。已有研究表明, 环

境胁迫如干旱、盐、低温、热击等都可诱发植物细胞产生 Ca²⁺ 信号, 产生相应的生理生化反应。Ca²⁺·CaM 信使参与调节玉米幼苗中抗旱活性而提高玉米幼苗抗旱性^[13]。

在环境胁迫下, 质膜 Ca²⁺-ATPase 的基因转录水平增加, 加快胞质 Ca²⁺ 往质外体或细胞器中运输, 有利于保持胞质 Ca²⁺ 稳态。Ca²⁺-ATPase 对逆境具有应答功能, 但在不同逆境下, 发挥作用的方式是不相同的^[14]。在生理逆境下, 植物 NADK 的活性及其对 CaM 的依赖性会发生变化。这种变化可能与植物的抗逆性有一定关系。这种情况在其它的麦类作物如大麦、燕麦和黑麦中也得到了证实^[15]。另外抗性品系在水分亏缺时, 酶活性会逐渐降低, 而非抗性品系则没有变化。在其它的逆境如低温下, 植物 NADK 活性也会发生变化, 酶总活性和 CaM 依赖性活性均会上升。

参考文献:

- [1] 中-加合作项目定位试验总结报告(内部资料). 中国农业科学土壤肥料研究所, 1991.
- [2] 谢建昌, 等. 中国土壤的钾素肥力与需钾前景[A]. 《中国平衡施肥报告会论文集》加拿大钾肥公司, 1991: 14-34.
- [3] 刘延吉, 田晓艳, 曹敏建. 低钾胁迫对玉米苗期根系生长和钾吸收特性的影响[J]. 玉米科学, 2007, 15(2): 107-110.
- [4] 刘 蓓, 曹敏建, 闫洪奎. 低钾胁迫下不同耐性玉米自交系生理差异的研究[J]. 玉米科学, 2006, 14(3): 90-92.

(上接第 90 页)

- [5] 王 波,杨振明. 水稻耐低钾基因型的筛选及吸钾特性的研究[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(1):85-88.
- [6] Alonso R N, Francisco R. High-affinity potassium and sodium transport systems in plants[J]. J. Exp. Bot., 2006, 57: 1149-1160.
- [7] Anne A, Véry, Hervé S. Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants[J]. Annu.Rev. Plant Biol., 2003, 54: 575-603.
- [8] Ashley M K, Grant M, Grabov A. Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins[J]. J. Exp. Bot., 2006, 57: 425 - 436.
- [9] Frans J, M Maathuis. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity:the basis of cellular K⁺/Na⁺[J]. Annals or Botany, 1999, 84: 123-133.
- [10] Mark W S, Britto D T, Herbert J K. Rapid, Futile K⁺ cycling and pool-size dynamics define low-affinity potassium transport in barley [J]. Plant Physiology. 2006, 141: 1494-1507.
- [11] Mikl ó s E, Sarjala T. Correlation between the levels of potassium and

polyamines in the leaves of grapevine[J]. Plant Physiology. 2002, 46 (3-4): 203-204.

- [12] 梁建生,张建华. 根系逆境信号 ABA 的产生和运输及其生理作用[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5):329-339 .
- [13] 刘宏涛,李 冰,等. 钙和钙调素对玉米幼苗抗旱性的调控. 钙—钙调素信号系统与环境刺激[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 554-559 .
- [14] 郭秀林,李孟军,等. ABA 与 Ca²⁺/CaM 信使系统关系[J]. 西北植物学报, 2001, 21(6):1283-1287 .
- [15] Maarten J. Chrispeels. Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells[J]. Plant Cell, 1999, 11: 661-676.
- [16] Jonathan N, Egilla. Effect of potassium on drought resistance[J]. Plant and Soil, 2001, 229: 213-234.

(责任编辑:李万良)