

油菜素内酯通过其受体 BRI1 调控氧化胁迫抗性

夏晓剑*, 高春娟, 聂文峰, 师 恺, 周艳虹, 喻景权

(浙江大学园艺系, 杭州 310058)

通过 BR 合成抑制剂已证明内源 BR 参与黄瓜对低温、高温、氧化胁迫和病毒病等多种逆境的响应, 但是对于 BR 调控蔬菜抗性的分子机理还知之甚少。在调控生长发育过程中, BR 主要通过受体 BRI1 激发下游信号转导以及基因表达。本研究旨在阐明 BR 调控蔬菜抗逆性是否通过依赖于 BRI1 的信号途径抑或通过其他的信号转导分子。

通过对比拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa*)、烟草 (*Nicotiana tabacum*)、豌豆 (*Pisum sativum*) 和番茄 (*Solanum lycopersicum*) 的 BR 受体编码序列, 设计引物扩增片段后, 经回收纯化构建 TRV 病毒介导的基因沉默 (VIGS) 载体。以番茄品种 ‘Condine Red’ 为材料, 获得 BRI1 沉默植株, 以 TRV-PDS 载体接种植株为对照观察沉默效率。同时利用 BR 合成缺失突变体 d^{im} 。试验于人工气候室进行, 温度、光照强度和光周期保持在 21 °C、600 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 12 h/12 h。以 200 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 24-表油菜素内酯 (EBR) 处理 WT、 d^{im} 和 TRV-SIBRI1 植株, 清水为对照。处理 24 h 后, 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 百草枯 (PQ) 喷施植株, 后采集叶片利用荧光成像系统测定 F_v/F_m , 并用 NBT 和 DAB 染色法对 ROS 累积进行检测, 部分样品于 -80 °C 保存以测定抗氧化酶活力和基因表达。

BR 合成基因表达的反馈抑制是反映 BR 信号途径增强的分子响应。EBR 处理后能显著抑制 WT 和 d^{im} 植株中 CPD、DWF4 和 BR6ox 等 BR 合成基因的表达, 而对 TRV-SIBRI1 植株中上述基因的表达没有影响, 从而证明确实获得了 BRI1 含量降低的番茄植株。EBR 处理能显著提高 WT 和 d^{im} 植株的 H_2O_2 信号, H_2O_2 作为信号进一步提高抗氧化酶活力和 WRKY、PR、CAT 等防御基因的表达, SIBRI1 沉默导致 EBR 无法诱导 H_2O_2 和抗逆防御反应。通过 PQ 处理进一步研究不同植株的抗氧化能力表明, d^{im} 和 TRV-SIBRI1 本身对氧化胁迫的抗性均显著低于 WT, d^{im} 的抗性能为外源添加 EBR 所恢复, 而 TRV-SIBRI1 的抗性在 EBR 处理后没有变化。因此, EBR 通过产生 ROS 诱导氧化胁迫的抗性依赖于 BRI1 受体。在调控植物生长发育过程中, BR 通过与 BRI1 结合引起 BRI1 激酶结构域活性的变化, 通过下游转录因子 BZR1/BES1 的去磷酸化增强其转录活性, 最终调控基因表达和各种生理功能。BR 通过 BRI1 产生 H_2O_2 以及氧化胁迫抗性促使作者思考 BR 是否通过同样的信号途径调控植物抗逆性。但是, 之前的研究表明 ABA 通过促进 BZR1 的磷酸化与 BR 信号途径相拮抗, 而 H_2O_2 作为 ABA 信号的第二信使势必在其中发生作用。作者最近的研究也表明, H_2O_2 能诱导 CPD、DWF4 等基因的表达, 进一步说明 H_2O_2 可能对 BZR1 发生抑制。因此, BRI1 如何介导两个不同信号途径的功能值得进一步研究。

关键词: 番茄; 油菜素内酯; 活性氧; BRI1

中图分类号: S 641.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2573-01

收稿日期: 2011-09-12

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2009CB119000)

* E-mail: zhejiangyh@163.com; Tel: 0571-88982383