

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2012.00865

## 甜菜-甜菜坏死黄脉病毒互作过程中过氧化氢的积累与分布

陈玉珍<sup>1</sup> 张少英<sup>1,\*</sup> 康振生<sup>2</sup> 韩青梅<sup>2</sup> 白朕卿<sup>1</sup>

<sup>1</sup>内蒙古农业大学农学院 / 甜菜生理研究所, 内蒙古呼和浩特 010019; <sup>2</sup>西北农林科技大学 / 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西杨凌 712100

**摘要:**以甜菜抗、感丛根病品种与甜菜坏死黄脉病毒互作体系为研究对象,检测不同体系间H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生和积累,并利用电镜细胞化学标记技术在亚细胞水平上对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的空间分布定位,探讨H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累和分布与甜菜抗丛根病性的关系。结果表明,甜菜抗、感丛根病体系均出现大量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,其中抗病体系的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生量明显高于感病体系。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在抗病和感病体系中的分布位置基本相似,多分布在块根、叶脉细胞的液泡膜和质膜上,叶脉细胞间隙也有H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的分布,但不同体系间H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量有着明显差异,感病体系H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>沉积量明显弱于抗病体系。研究结果说明,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生量和分布与甜菜抗丛根病性有密切联系,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>参与了甜菜对病毒侵染的防御反应。

**关键词:**甜菜; BNYVV; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 细胞化学

## Accumulation and Distribution of Hydrogen Peroxide in Interaction between Sugarbeet Plant and Sugarbeet Necrotic Yellow Vein Virus

CHEN Yu-Zhen<sup>1</sup>, ZHANG Shao-Ying<sup>1,\*</sup>, KANG Zhen-Sheng<sup>2</sup>, HAN Qing-Mei<sup>2</sup>, and BAI Zhen-Qing<sup>1</sup>

<sup>1</sup> College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University / Sugarbeet Physiological Institute, Huhhot 010019, China; <sup>2</sup> Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry / State Key Laboratory of Crop Stress Biology in the Arid Areas, Yangling 712100, China

**Abstract:** Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) plays an important role in the interaction between plant and pathogen defense response. The objective of this research was owing the interaction system of beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) and resistant, susceptible sugarbeet lines to disclose the relationship of accumulation and distribution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> with sugarbeet rhizomania resistance. The production and accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the two interaction systems were detected and the distribution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was observed in subcellular level using the cytochemical technique. The result showed that there was plenty of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in both interaction systems, and the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was evidently higher in the resistant lines than with in the susceptible lines. In addition, distribution and the location of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were similar in the two lines, where we observed mainly in the tonoplast and the plasma membrane of host root, vein cells as well as the intercellular space of some host vein cells. But there were obvious differences in the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulated in the two interaction lines, the deposition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the susceptible line was significantly lower than that in the resistant line, showing it may have a close relationship with resistance of sugarbeet against rhizomania, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> showed the involved in the defense responses to virus infection in sugar beets.

**Keywords:** Sugarbeet; BNYVV; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; Cytochemistry

甜菜丛根病(Rhizomania)是以甜菜多黏菌(*Polymyxa betae*)为传播介体,由甜菜坏死黄脉病毒(beet necrotic yellow vein virus, BNYVV)引起的一种广泛流行的世界性病害。近年来,甜菜坏死黄脉病毒的侵染与传播<sup>[1]</sup>,已成为各国甜菜生产的主要限制因素,给甜菜糖产业带来巨大的经济损失。活性氧(reactive oxidative species, ROS)的产生是植物抗病

早期的反应之一。研究已证明,过氧化氢(hydrogen peroxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)作为ROS的一种,在植物与病原物互作的防卫反应中起着重要作用<sup>[2-7]</sup>。然而,有关甜菜与BNYVV互作过程中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生积累及其在抗病中的作用机制研究较少,主要是从生理生化及分子生物学角度进行了一些相关研究<sup>[8-9]</sup>,对于在亚细胞水平上来明确H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在寄主细胞内产生的具体部位及

本研究由国家自然科学基金项目(30760125)资助。

\* 通讯作者(Corresponding author): 张少英, E-mail: syzh36@yahoo.com.cn, Tel: 0471-4301709

第一作者联系方式: E-mail: chenyzhen818@126.com

Received(收稿日期): 2011-11-03; Accepted(接受日期): 2012-01-19; Published online(网络出版日期): 2012-03-05.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20120305.1042.021.html>

与抗病防御反应的关系,目前国内外未见报道。

因此,本试验以甜菜-BNYVV互作体系为对象,采用生理生化、细胞化学方法研究甜菜块根、叶片 $H_2O_2$ 的含量变化和分布特征,以明确 $H_2O_2$ 在甜菜-BNYVV互作中对抗丛根病性的作用机理,为进一步揭示甜菜抗丛根病性的信号传导途径提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

甜菜(*Beta vulgaris* L.)抗病品种农大甜研4号和感病品种KWS9419均由内蒙古农业大学甜菜生理研究所提供。在温室中,利用盆栽,在无病土(从未种植过甜菜的土)和病土(甜菜丛根病三级病土)中分别种植两品种(土壤基质为土 草炭=4 1)。3次重复,每个试验盘种植10株为1次重复。常规管理。于苗龄25、35、45、55和65 d分别取样测定BNYVV和 $H_2O_2$ 含量,其中选取病毒含量最高时期的甜菜抗、感病品种进行 $H_2O_2$ 细胞化学定位。

### 1.2 BNYVV含量测定

0.5 g甜菜叶片与块根,加液氮研磨成粉末,置1.5 mL小离心管中,加入500  $\mu$ L 2 $\times$ SDS蛋白上样缓冲液,振荡混匀后,于100 $^{\circ}$ C沸水中煮10 min,即刻插在冰上2 min,稍离心,取上清液,存于-80 $^{\circ}$ C冰箱备用。

参照于嘉林等<sup>[10]</sup>方法。浓缩胶浓度为4.5%,分离胶浓度为12.5%,电极缓冲液含25 mmol L<sup>-1</sup> Tris、250 mmol L<sup>-1</sup>甘氨酸(pH 8.3)、0.1% (m/V) SDS,以15 mA恒流或60 V恒压开始电泳,待溴酚蓝进入分离胶后电流调至30 mA或150 V恒压,电泳1~2 h。用微型Trans-Blot转印槽(Bio-Rad公司Mini-Protein 3 Electrophoresis Transfer Cell) (4 $^{\circ}$ C, 200 mA, 1.5 h)将蛋白质从凝胶上转移到硝酸纤维膜(NC)上。阴性对照为无病土种植的健康甜菜根和叶,阳性对照为接病毒的番杏(*Tetragonia expansa* Murr.)叶。BNYVV CP抗血清由中国农业大学韩成贵教授惠赠。利用QuantityOne软件进行BNYVV的凝胶成像定量分析。

### 1.3 $H_2O_2$ 含量测定

参照林植芳等<sup>[11]</sup>的方法,将0.5 g叶片与块根用3 mL冷丙酮磨成匀浆,离心(10 749 $\times$ g, 10 min),将上清液定容。0.5 mL上清液加0.1 mL含20% (V/V)  $TiCl_4$ 的浓盐酸溶液、0.2 mL浓氨水,混合后3 870 $\times$ g离心10 min,生成的过氧化物Ti复合物用丙酮洗5次,丙酮挥发后溶于5 mL硫酸(1 mol L<sup>-1</sup>)中,测

$A_{410}$ 。按同样程序制 $H_2O_2$ 标准曲线。利用SAS9.0软件进行不同甜菜品种间 $H_2O_2$ 含量的方差分析。

### 1.4 $H_2O_2$ 细胞化学定位

参照王晨芳<sup>[12]</sup>的方法,将苗龄55 d的甜菜叶片和块根分割成2~3 mm<sup>2</sup>大小,孵育在新鲜配制的含有5 mmol L<sup>-1</sup>  $CeCl_3$ 的50 mmol L<sup>-1</sup>的MOPS缓冲液中(pH 7.2),对照不加 $CeCl_3$ 。处理1 h后,材料被固定在含有1.25% (V/V)多聚甲醛和1.25% (V/V)戊二醛的50 mmol L<sup>-1</sup>二甲砷酸钠缓冲液中(pH 7.2) 2 h。之后,经二甲砷酸钠缓冲液充分冲洗后,用1%钼酸后固定2 h,经缓冲液再次冲洗后,用丙酮梯度脱水(30%、50%、70%、80%、90%和100%; V/V),以EPON812树脂渗透、包埋、聚合,Leica超薄切片机切片,不经染色于JEM-1230电镜下观察。

## 2 结果与分析

### 2.1 甜菜块根、叶片BNYVV含量检测

从图1可以看出,苗龄25 d到65 d甜菜块根中都检测到BNYVV,阴性对照和叶片中均未检测到该病毒;Western blot图片经凝胶成像定量分析显示(表1),BNYVV感染前期抗感病品种病毒含量没有明显的差异,苗龄45 d与65 d两者有显著差异,感病品种KWS9419的BNYVV含量明显高于抗病品种农大甜研4号,苗龄55 d病毒含量达到最高峰,感病品种比抗病品种病毒相对含量高1.45倍。说明BNYVV病毒已侵染甜菜,主要进入块根,而不传导或极少到达叶片,因而证实被检测样品确被BNYVV侵染。

### 2.2 甜菜 $H_2O_2$ 含量变化

从图2可见,同一品种病毒侵染后较侵染前甜菜块根的 $H_2O_2$ 含量有所增加,在苗龄25~65 d期间 $H_2O_2$ 含量为35 d>55 d>65 d>45 d>25 d,在苗龄35 d  $H_2O_2$ 含量最高,明显高于其他时期,差异极显著( $P<0.01$ )。抗病品种农大甜研4号和感病品种KWS9419比未侵染病毒的甜菜块根 $H_2O_2$ 含量分别升高4.27倍和3.52倍;抗病品种农大甜研4号块根的 $H_2O_2$ 含量高于感病品种KWS9419,平均高出1.30倍,差异显著( $P<0.01$ );图3结果显示了病毒侵染前后叶片 $H_2O_2$ 含量的变化。病毒侵染后农大甜研4号叶片的 $H_2O_2$ 为35 d>55 d>65 d>45 d>25 d, KWS9419叶片的 $H_2O_2$ 含量为55 d>35 d>45 d>65 d>25 d。农大甜研4号和KWS9419叶片中 $H_2O_2$ 含量分别在苗龄35 d和55 d最高。农大甜研4号叶片的 $H_2O_2$ 含量在151.00~1 220.99 nmol g<sup>-1</sup> FW之间, KWS9419叶片中 $H_2O_2$ 含

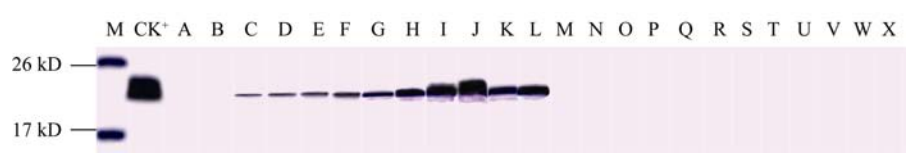


图 1 不同甜菜品种块根、叶片 BNYSV 含量

Fig. 1 BNYSV contents in the sugarbeet root and leaf

M: 彩色预染蛋白质分子量标准; CK<sup>+</sup>: 摩擦法接病毒的番杏叶; A和M: 未感染病毒的农大甜研 4 号块根和叶片(CK<sup>-</sup>); B和N: 未感染病毒的KWS9419 块根和叶片(CK<sup>-</sup>); C、E、G、I和K: 病毒感染后苗龄 25、35、45、55 和 65 d的农大甜研 4 号块根; D、F、H、J和L: 病毒感染后苗龄 25、35、45、55 和 65 d的KWS9419 块根; O、Q、S、U和W:病毒感染后苗龄 25、35、45、55 和 65 d的农大甜研 4 号叶片; P、R、T、V和X: 病毒感染后苗龄 25、35、45、55 和 65 d的KWS9419 叶片。

M: color prestained protein molecular weight standard; CK<sup>+</sup>: leaves of *Tetragonia expansa* with virus by friction law; A and M: root and leaf of Nongdatianyan 4 without virus infection (CK<sup>-</sup>); B and N: root and leaf of KWS9419 without virus infection (CK<sup>-</sup>); C, E, G, I, and K: Nongdatianyan 4 roots at 25, 35, 45, 55, and 65 days after virus infection; D, F, H, J, and L: kws9419 roots at 25, 35, 45, 55, and 65 days after virus infection; O, Q, S, U, and W: Nongdatianyan 4 leaf at 25, 35, 45, 55 and 65 days after virus infection; P, R, T, V, and X: KWS9419 leaf at 25, 35, 45, 55, and 65 days after virus infection.

表 1 甜菜块根、叶片 BNYSV 的定量分析  
Table 1 BNYSV quantitative analysis of sugarbeet root and leaf

序号 Index	样品名 Name	BNYSV 相对量 % Adj.Vol	序号 Index	样品名 Name	BNYSV 相对量 % Adj.Vol	序号 Index	样品名 Name	BNYSV 相对量 % Adj.Vol
1	CK <sup>+</sup>	30.24	10	I	10.05	18	Q	0.01
2	A	0.02	11	J	14.60	19	R	0.02
3	B	0.03	12	K	8.72	20	S	0.03
4	C	4.98	13	L	9.81	21	T	0.01
5	D	5.07	14	M	0.02	22	U	0.03
6	E	5.29	15	N	0.02	23	V	0.01
7	F	5.97	16	O	0.03	24	W	0.01
8	G	6.37	17	P	0.01	25	X	0.02
9	H	8.82						

凝胶：原一维图像；% Adj.Vol: BNYSV 相对量。Gel name: (Raw 1-D Image); % Adj.Vol: relative amount of BNYSV.

量在 252.63~904.85 nmol g<sup>-1</sup> FW之间, 农大甜研 4 号比KWS9419 平均高出 1.04 倍, 抗病品种中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生量明显高于感病品种。说明BNYSV侵染甜菜后可诱导甜菜抗、感病品种块根及叶片中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可作为甜菜抗丛根病的一个信号分子, 激活抗病因子, 增加抗病因子的表达量, 提高抗病性。

2.3 甜菜中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>细胞化学定位

采用CeCl<sub>3</sub>标记细胞中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的分布是基于Ce<sup>3+</sup>能与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>反应形成电子致密度较深的氢氧化铈沉积

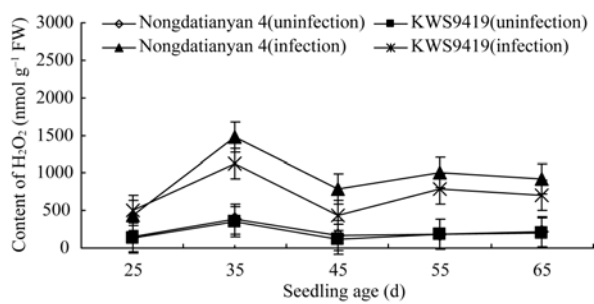


图 2 不同甜菜品种块根H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量变化

Fig. 2 Changes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content of root in two sugarbeet varieties

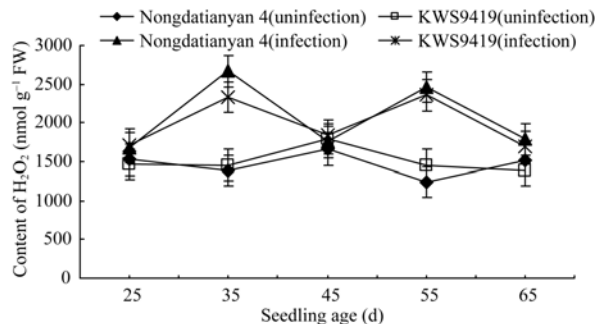


图 3 不同甜菜品种叶片H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量变化

Fig. 3 Changes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content of leaf in two sugarbeet varieties

物的原理。通过电镜观察发现, 未用CeCl<sub>3</sub>处理的样品中没有黑色颗粒状沉淀物的分布(图 4-C, D; 图 5-C, D), 因此, 氢氧化铈沉积的多少及着色深浅为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>分布的真实反映。而在未侵染病毒的甜菜块根、叶脉细胞的液泡膜、质膜上有少量黑色沉积(图 4-A, B; 图 5-A, B)。表明寄主体内本身也存在一定量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 病原物侵染后甜菜块根、叶脉中积累的沉积物并不完全是由病原物刺激产生的。

BNYVV侵染后,抗病品种农大甜研4号中,可观察到在块根皮层细胞和叶脉薄壁细胞的液泡膜、质膜上有电子致密度高的物质沉积,也就是氢氧化铈沉积物(图4-E~H);此外,在叶脉细胞的细胞间隙也有沉积物的分布(图4-G);感病品种KWS9419中,块根、叶脉细胞的细胞质膜及液泡膜可发现氢氧化铈沉积物的分布(图5-E~H)。在感病体系中细胞质膜、液泡膜与细胞间隙上氢氧化铈沉积的量及分布程度要明显弱于抗病体系的。表明甜菜细胞质膜和液泡膜上沉积的 $H_2O_2$ 与甜菜抗丛根病性有一定的关系。

### 3 讨论

植物在逆境胁迫的条件下产生较多的ROS。Laloi等<sup>[13]</sup>报道ROS有很高的生物学活性,高浓度的ROS可引起细胞内大分子的氧化损伤;低浓度的ROS在细胞的防御和适应反应中起信号分子作用。本研究表明,在BNYVV作用下甜菜抗、感病品种块根与叶片 $H_2O_2$ 含量均呈上升趋势, $H_2O_2$ 在甜菜块根中先产生,再诱导叶片中 $H_2O_2$ 的产生。农大甜研4号和KWS9419块根的 $H_2O_2$ 含量均在苗龄35 d达到最高

峰,而其叶片的 $H_2O_2$ 含量分别在苗龄35 d和55 d达到最高峰。表明抗病品种农大甜研4号先把信号传递给叶片,比感病品种KWS9419信号传递快。 $H_2O_2$ 的大量产生,作为第二信使作用于下游与抗病性相关的基因,激发并增强抗病因子的表达量,参与甜菜对病毒侵染的防御反应,从而提高甜菜的抗丛根病性。

对 $H_2O_2$ 积累的细胞化学标记结果显示,未侵染病毒的甜菜块根与叶脉细胞的液泡膜和质膜上发现有少量沉积物的分布。表明寄主体内本身也存在一定量的 $H_2O_2$ ,病原物侵染后甜菜块根、叶脉中积累的沉积物并不完全是由病原物刺激产生的。病毒侵染诱导产生大量 $H_2O_2$ 主要在抗、感病甜菜块根皮层细胞以及叶脉薄壁细胞的液泡膜、细胞质膜上分布,两者分布位置没区别,但前者产生量更多,分布更广。在信号传递过程中ROS可直接作为中间体,在转录水平上激活防御相关基因的表达<sup>[14]</sup>,此外,研究发现质膜受体参与植物抗病过程中的信号传导<sup>[15]</sup>,甜菜块根与叶脉细胞的质膜上的 $H_2O_2$ 有可能激活某种抗病基因,此抗病基因编码质膜上的具有激发子特异识别的质膜受体。王晨芳<sup>[12]</sup>研究表明,病原

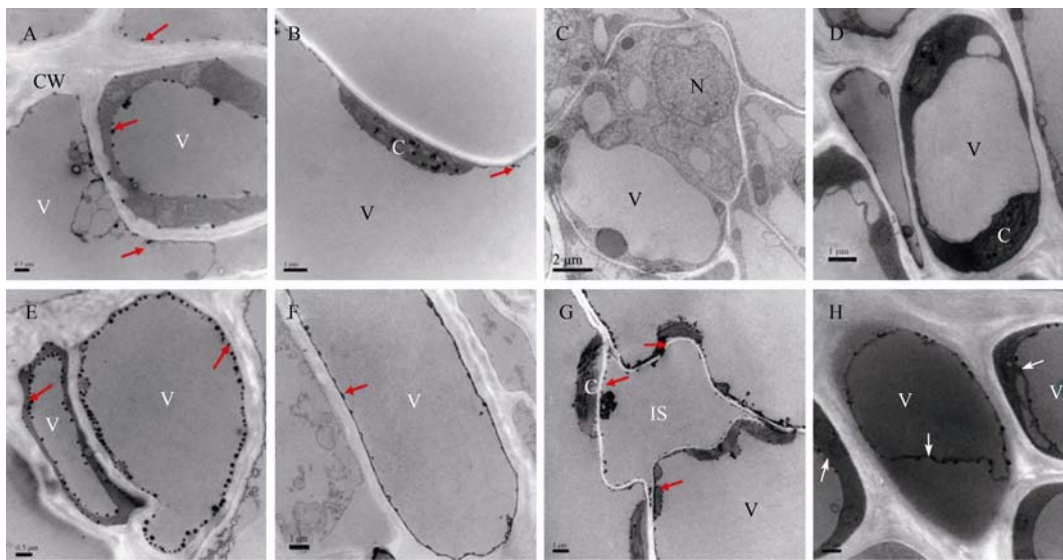
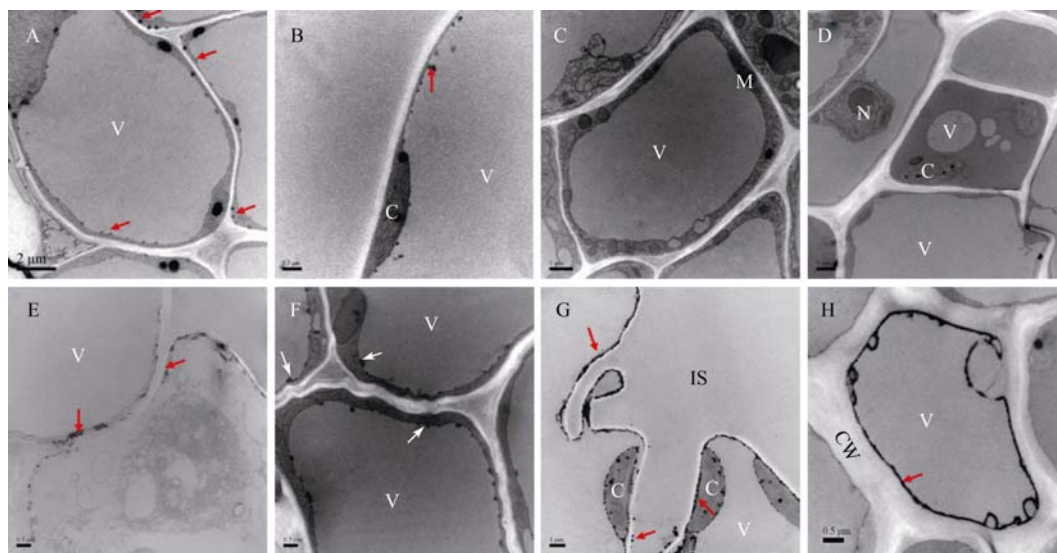


图4 甜菜农大甜研4号 $H_2O_2$ 积累的定位

Fig. 4 Localization of  $H_2O_2$  accumulation in sugarbeet Nongdatianyan 4

A~B: 病毒未侵染的寄主块根细胞的液泡膜和质膜、叶脉细胞的液泡膜上有氢氧化铈沉积物(箭头); C~D: 未经 $CeCl_3$ 处理的病毒侵染后的寄主块根、叶脉细胞内没有发现氢氧化铈沉积物; E~F: 病毒侵染后的寄主块根细胞的质膜和液泡膜上有氢氧化铈沉积物(箭头); G~H: 病毒侵染后的寄主叶脉细胞的质膜、液泡膜和细胞间隙上有氢氧化铈沉积物(箭头)。V: 液泡; C: 叶绿体; N: 细胞核; IS: 胞间隙; CW: 细胞壁。  
A~B: without virus infection, the tonoplasts of host root cells and plasma membrane of host vein cells accumulate cerium hydroxide precipitates; C~D: without treatment of  $CeCl_3$ , absence of cerium hydroxide staining in host root, vein cells after virus infection; E~F: cerium hydroxide precipitates can be seen in the plasma membrane and tonoplasts of host root cells after virus infection (arrows); G~H: cerium hydroxide precipitates is located in the plasma membrane, tonoplasts and intercellular space of host vein cells after virus infection (arrows).  
V: vacuole; C: chloroplast; N: nuclei; IS: intercellular space; CW: cell wall.



图5 甜菜KWS9419中 $\text{H}_2\text{O}_2$ 积累的定位Fig. 5 Localization of  $\text{H}_2\text{O}_2$  accumulation in sugarbeet KWS9419

A~B: 病毒未侵染的寄主块根细胞的液泡膜和质膜、叶脉细胞的液泡膜上有氢氧化铈沉积物(箭头); C~D: 未经氢氧化铈处理的病毒侵染后的寄主块根、叶脉细胞内没有发现氢氧化铈沉积物; E~F: 病毒侵染后的寄主块根细胞的质膜和液泡膜上有氢氧化铈沉积物(箭头); G~H: 病毒侵染后的寄主叶脉细胞的质膜、液泡膜上有 $\text{CeCl}_3$ 沉积物(箭头)。V: 液泡; C: 叶绿体; N: 细胞核; IS: 胞间隙; CW: 细胞壁; M: 线粒体。

A~B: without virus infection, the tonoplasts of host root cells and plasma membrane of host vein cells after virus infection accumulate cerium hydroxide precipitates; C~D: without treatment of  $\text{CeCl}_3$ , absence of cerium hydroxide staining in host root, vein cells after virus infection; E~F: cerium hydroxide precipitates can be seen in the plasma membrane and tonoplasts of host root cells after virus infection (arrows); G~H: cerium hydroxide precipitates is located in the plasma membrane and tonoplasts of host vein cells after virus infection (arrows). V: vacuole; C: chloroplast; N: nuclei; IS: intercellular space; CW: cell wall; M: mitochondria.

菌侵染小麦后叶肉细胞液泡膜上有 $\text{H}_2\text{O}_2$ 积累,说明 $\text{CeCl}_3$ 都能够穿透质膜进入细胞内部,但液泡膜上产生的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 究竟在信号转导中有何作用尚不清楚。Andreev等<sup>[16]</sup>指出虽然液泡中ROS的产生及在ROS信号转导中的作用尚不明确,但液泡在成熟植物细胞中占很大体积,推测液泡可能在ROS代谢中担任未知的重要作用。维管束是病原物入侵体内的主要通道,甜菜受病毒侵染后,块根细胞间隙未见氢氧化铈的沉积,但叶脉细胞间隙发现有 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的标记。说明叶片中的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 是系统性诱导产生的, $\text{H}_2\text{O}_2$ 作为叶脉细胞内应答伤害的信号分子快速传递信息,在维管组织细胞中 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的积累将有助于提高甜菜自身的防御能力。从本实验结果可以推测甜菜块根在病原物侵染位点积累信号分子,并通过韧皮部转运,与相对应的受体结合,诱发甜菜叶脉产生系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)。关于植物体内 $\text{H}_2\text{O}_2$ 系统产生方式与信号传导的详细途径,还待进一步研究<sup>[17]</sup>。叶绿体<sup>[4]</sup>、细胞壁<sup>[5,12,18]</sup>是植物体中产生ROS的主要部位。本试验在对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的定位观察中没有发现寄主细胞的叶绿体以及细胞壁上有明显颗粒状沉积物的分布。由此可见,对相同寄主植物采用不同的胁迫因子、同一个胁迫因子诱导不同的寄

主植物,或同一个胁迫因子诱导不同时期的同一个寄主, $\text{H}_2\text{O}_2$ 产生的部位可能都会有所差异。

## 4 结论

BNYVV侵染甜菜品种后对其块根和叶脉细胞内源 $\text{H}_2\text{O}_2$ 有明显的影。抗、感病甜菜品种细胞内源 $\text{H}_2\text{O}_2$ 水平的差异暗示,细胞质膜、液泡膜及细胞间隙沉积的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 作为信号分子参与了甜菜-BNYVV互作的防卫反应。本实验结果从组织细胞学水平为研究甜菜抗丛根病机制及建立信号传导途径提供了可靠的理论依据。

## References

- [1] Scholten O E, Lange W. Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: a review. *Euphytica*, 2000, 112: 219–231
- [2] Thordal-Christensen H, Zhang Z G, Wei Y D, Collinge D B. Subcellular localization of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in plants:  $\text{H}_2\text{O}_2$  accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley–powdery mildew interaction. *Plant J*, 1997, 11: 1187–1194
- [3] Alvarez M E, Pennell R I, Meijer P J, Ishikawa A, Dixon R A, Lamb C. Reactive oxygen inter-mediate mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell*, 1988, 92: 773–784
- [4] Orozco-Cárdenas M L, Narváze-Vásquez J, Ryan C A. Hydrogen

- peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemic, and methyl jasmonate. *Plant Cell*, 2001, 13: 179–191
- [5] Wang Y-C(王源超), Zhang Z-G(张正光), Li J(李俊), An C-C(安成才), Chen Z-L(陈章良), Zheng X-B(郑小波).  $H_2O_2$  is involved in hypersensitive response and systemic acquired resistance induced by the 90 kD protein elicitor of phytophthora boehmeriae. *J Plant Physiol Mol Biol* (植物生理与分子生物学学报), 2003, 29(3): 185–191 (in Chinese with English abstract)
- [6] Maffei M E, Mithfer A, Arimura G, Uchtenthagen H, Bossi S, Berteau C M, Cucuzza L S, Novero M, Volpe V, Quadro S. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves: III. Membrane depolarization and involvement of hydrogen peroxide. *Plant Physiol*, 2006, 140: 1022–1035
- [7] Wang C F, Huang L L, Heinrich B, Han Q M, Zhang H Z, Kang Z S. Histochemical studies on the accumulation of reactive oxygen species ( $O_2^-$  and  $H_2O_2$ ) in the incompatible and compatible interaction of wheat—*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2007, 71: 230–239
- [8] Wang J-B(王俊斌). Study on Some Physiological and Biochemical Characters of Resistance (Tolerance) to Rhizomania in Sugar Beet. MS Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2004 (in Chinese with English abstract)
- [9] Chen G-H(陈贵华), Zhang S-Y(张少英), Li G-L(李国龙). The effects of beet necrotic yellow vein virus on the membrane lipid peroxidation in sugarbeet seedlings. *J Inner Mongolia Agric Univ* (内蒙古农业大学学报), 2010, 31(4): 40–42 (in Chinese with English abstract)
- [10] Yu J-L(于嘉林), Han C-G(韩成贵), Yang L-L(杨莉莉), Li D-W(李大伟), Liu Y(刘仪). cDNA cloning, sequencing and expression of RNA4 from beet necrotic yellow vein virus. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 1997, 37(1): 7–14 (in Chinese with English abstract)
- [11] Lin Z-F(林植芳), Li S-S(李双顺), Lin G-Z(林桂珠), Guo J-Y(郭俊彦). The accumulation of hydrogen peroxide in senescing leaves and chloroplasts in relation to lipid peroxidation. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1988, 14(1): 16–22 (in Chinese with English abstract)
- [12] Wang C-F(王晨芳). Studies on Histology and Cytochemistry of Oxidative Burst during Wheat-*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Interaction. PhD Dissertation of Northwest A&F University, 2008 (in Chinese with English abstract)
- [13] Laloi C, Apell K, Danon A. Reactive oxygen signaling: the latest news. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7: 323–328
- [14] Song L-L(宋莉璐), Zhang Q(张荃). Reactive oxygen gene network of plants and its regulation. *Chin Bull Life Sci* (生命科学), 2007, 19(3): 346–352 (in Chinese with English abstract)
- [15] Zhai W-X(翟文学), Zhu L-H(朱立煌). Cloning of the plant resistance genes and molecular breeding. *Prog Biotechnol* (生物工程进展), 1996, 16(1): 17–21 (in Chinese with English abstract)
- [16] Andreev I M. Functions of the vacuole in higher plant cells. *Russ J Plant Physiol*, 2001, 48: 672–680
- [17] An Y(安钰). The Role of Hydrogen Peroxide in Induced Defense Response of *Populus simonii* × *P. pyramidalis* cv. 'Opera 8277' Cuttings. PhD Dissertation of Beijing Forestry University, 2008 (in Chinese with English abstract)
- [18] Romero-Puertas M C, Rodríguez-Serrano M, Corpas F J, Gómez M, Delrío L A, Sandalio L M. Cadmium induced subcellular accumulation of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  in pea leaves. *Plant Cell Environ*, 2004, 27: 1122–1134