

# 水分胁迫对小黑麦生理生化特性和可溶性蛋白质的影响

王金玲<sup>1</sup>,董心久<sup>1</sup>,田成军<sup>2</sup>,魏凌基<sup>1</sup>

(1. 石河子大学农学院,新疆石河子 832003; 2. 新疆中国彩棉(集团)股份有限公司,新疆乌鲁木齐 830016)

**摘要:**为揭示小黑麦的抗旱机制并为抗旱育种提供理论依据,采用30%PEG-6000渗透液模拟干旱环境对小黑麦H01-4幼苗进行干旱胁迫处理,结果表明,随着胁迫时间的延长,H01-4叶片相对含水量下降,复水后上升,再胁迫后又下降;脯氨酸含量与叶片相对含水量变化呈相反趋势。H01-4叶片中也诱导出了新蛋白带,胁迫24h诱导产生了26.21kD和23.50kD的新蛋白,胁迫48h诱导产生了29.97kD的新蛋白,49.44kD和27.77kD的蛋白只发生了量的变化。

**关键词:**小黑麦;相对含水量;脯氨酸;诱导蛋白

中图分类号:S512.1;S318

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2006)05-0137-03

## Influence of Water Stress on Physiological and Biochemical Properties and Soluble Proteins of Triticale

WANG Jin-ling<sup>1</sup>, DONG Xin-jiu<sup>1</sup>, TIAN Cheng-jun<sup>2</sup>, WEI Ling-ji<sup>1</sup>

(1. Agronomy College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2. China Colored-cotton(group) Co. Ltd. of Xinjiang, Urumqi, Xinjiang 830016, China)

**Abstract:** Triticale has strong drought tolerance, to reveal the mechanisms and to provide effective ways to drought tolerance breeding, 30% PEG-6000 simulation environment were used to study triticale seedlings at drought condition. The results indicate: with the prolonging of PEG treatment, the relative water content of triticale H01-4 leaves rose first, and then fell down, Proline content changes and leaves relative water content contrary trends; leaves also induce a new protein belt. 26.21 kD and 23.50 kD was induced in the 24 h of the treatment. 29.97 kD was induced in the 48 h of the treatment. 49.44 kD and 27.77 kD only occurred volume changes.

**Key words:** Triticale; Relative water content; Proline; Induced protein

作物对逆境因子的适应过程中经常伴随一些生理生化特性的变化。人们对脯氨酸含量的变化研究较多,发现黑麦草、大麦、小麦、水稻、高粱、棉花、烟草、大豆等在受到干旱胁迫时都有脯氨酸累积<sup>[1]</sup>。研究表明,在干旱胁迫下不同作物或同种作物的不同栽培品种,一定范围内在相同胁迫强度条件下随着处理时间的延长游离脯氨酸积累量不断增加<sup>[2]</sup>。一些研究指出,水分胁迫条件下植物体内正常的蛋白质合成能力明显下降,同时伴随着一些特异的蛋白质产生,这些特异的蛋白质被称为干旱诱导蛋白,它们是导致植物抗旱的一系列生理生化反应的基础<sup>[3,4]</sup>。

小黑麦是小麦和黑麦经过属间杂交人工合成

的物种,在干旱胁迫下具有较好的适应性。目前国内对小黑麦的生理和品质方面的研究较多,而对干旱胁迫下可溶性蛋白质的研究未见报道。本试验以小黑麦H01-4为材料,利用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术研究了在水分胁迫下苗期叶片相对含水量(RWC)、脯氨酸(Pro)含量及可溶性蛋白质的变化,旨在为深入认识小黑麦抗旱机理,发掘抗旱相关基因奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养及处理

小黑麦品系H01-4是2001年经大田筛选获

收稿日期:2006-01-10 修回日期:2006-04-28

基金项目:石河子大学科学研究基金项目。

作者简介:王金玲(1978-),女,硕士,研究方向为生物技术作物遗传育种中的应用。

通讯作者:魏凌基(1955-),女,教授,主要从事作物遗传育种研究。

得的抗旱材料。将小黑麦 H01-4 的种子用 0.1 % HgCl<sub>2</sub> 消毒 15 min, 漂洗 3 次, 蒸馏水吸胀 6 h, 砂床 25 °C 暗萌发 3 d 后幼苗分栽。用 1/4 Hoagland 营养液配制成的 30 % PEG-6000 渗透液进行处理, 重复 3 次, 对照为 Hoagland 营养液。每天光照 16 h, 温度 25 °C。至长出第二片真叶分别于胁迫 0、24、48、72 h、复水 48 h、再胁迫 48 h 时取样。取样时用无菌剪将幼叶剪下, 一部分用无菌纸将样品包好, 液氮速冻, 最后转入 -70 °C 冰箱备用, 一部分用于相对含水量 (RWC) 和脯氨酸 (Pro) 的测定。

### 1.2 生理生化指标测定

RWC 的测定以及 Pro 含量的测定参照文献 [5] 的方法进行。

### 1.3 叶片蛋白的提取

按照任东涛<sup>[6]</sup>的方法稍加改进。提取液为 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0), 每一处理称取 0.5 g 叶片, 按 1.5 : 1 加入 0.75 mL 提取液及少量石英砂, 冰浴研磨; 研磨液于 4 °C, 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清; 上清液按 1 : 1 加入样品缓冲液 (0.125 mol/L Tris, 20 % 甘油, 10 % 巯基乙醇, 0.01 % 溴酚蓝, 4 % SDS, pH 6.8); 沸水浴 5 min, 冷却后供点样用<sup>[3]</sup>。

### 1.4 SDS-PAGE 电泳

按照 Laemmli 的 SDS-PAGE 方法, 浓缩胶 5 %, 分离胶 12 %, 考马斯亮蓝 R-250 染色。

## 2 结果与分析

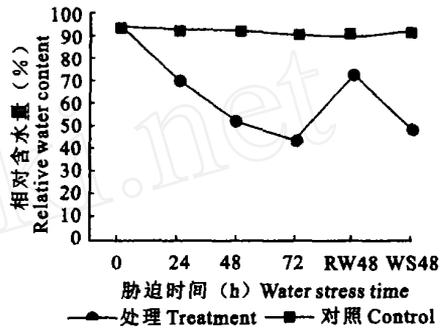
### 2.1 水分胁迫下叶片 RWC 及 Pro 含量的动态变化

随着干旱胁迫时间的延长, 小黑麦 H01-4 的 RWC 呈下降趋势, 在 24、48、72 h 胁迫时间下分别比对照减少 24.57、43.85、52.06 个百分点, 复水 48 h 后再胁迫 48 h, RWC 比对照减少 47.50 个百分点 (图 1)。

Pro 含量的变化与叶片 RWC 变化趋势相反 (图 2)。随着胁迫时间的延长, Pro 含量呈上升趋势, 在 24、48、72 h 胁迫时间下, 分别是对照的 2.3、4.6、7.9 倍; 复水 48 h 后 Pro 含量下降, 为对照的 3.8 倍; 再胁迫 48 h 又上升为对照的 7.4 倍。表明小黑麦 Pro 含量在一定程度上反应了体内的水分情况, 可以作为检验植物缺水情况的参考性生理指标。

### 2.2 水分胁迫下幼苗叶片可溶性蛋白质的变化

在不同的胁迫时间下, 小黑麦幼苗叶片的蛋白质发生了相应的变化 (图 3)。随着胁迫时间的延长, 49.44 kD 的蛋白带逐渐减少, 到了 72 h 消失, 复水后该蛋白带又出现了, 再胁迫又消失了; 27.77 kD 蛋白带随胁迫的加强略有增加, 但复水后其含量减少, 再胁迫又增加; 在胁迫 48 h 时诱导产生了 29.97 kD 的新蛋白, 72 h 时含量减少, 复水后消失, 再胁迫又重新出现; 在胁迫 24 h 时产生了 26.21 kD 和 23.50 kD 的新蛋白, 26.21 kD 的蛋白带随着胁迫时间的延长而加强, 复水后消失, 再胁迫又重新出现; 23.50 kD 蛋白含量随着胁迫时间的加强变化不明显, 但复水后消失, 再胁迫后又出现。这表明水分胁迫条件下, 小黑麦体内的蛋白质合成能力下降, 同时又产生了新的蛋白质。



RW48 和 WS48 分别表示复水 48 h 和再胁迫 48 h, 图 2 同。RW48 and WS48 mean 48 h after rewatering and treated again with PEG for 48 h, respectively. The same are as in Fig. 2

图 1 干旱胁迫下小黑麦 H01-4 叶片 RWC 的动态变化

Fig 1 H01-4 leaf relative water content dynamic change by water stress

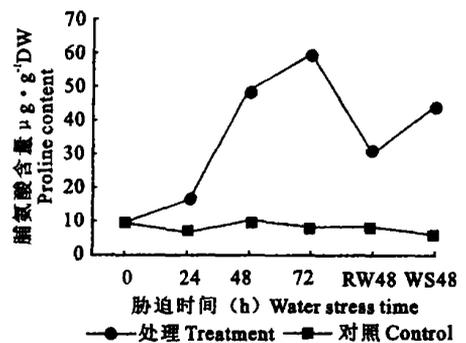


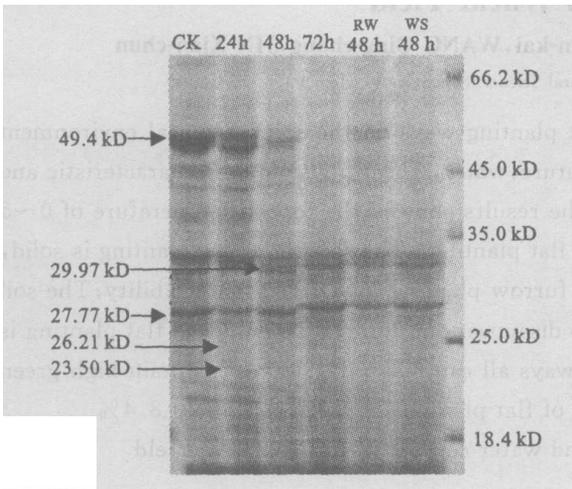
图 2 干旱胁迫下小黑麦 H01-4 叶片脯氨酸含量的动态变化

Fig 2 H01-4 leaf proline content dynamic change by water stress

### 3 讨 论

#### 3.1 水分胁迫对小黑麦 H01-4 Pro 含量的影响

处于水分胁迫下的植物内部将产生一系列物质代谢变化,其中最明显的变化之一就是游离 Pro 的大量积累。Singh 以 10 个抗旱性不同的大麦品种为材料,研究了水分胁迫下 Pro 积累与抗旱性的关系,结果表明,水分胁迫下抗旱性强的品种积累更多的 Pro,Pro 的积累能力与抗旱性成正相关。并认为水分胁迫下植物体内 Pro 的积累可作为抗旱性鉴定指标<sup>[7]</sup>。本实验发现干旱胁迫下小黑麦 Pro 的积累随着胁迫时间的延长而逐渐增加,这与前人研究结果一致<sup>[8]</sup>。因此,Pro 可作为小黑麦的一个抗旱性指标。



CK,24 h,48 h,72 h,RW48 h,WS48 h 分别表示对小黑麦 H01-4 干旱胁迫处理 0,24,48,72 h,复水 48h,再胁迫 48h。

CK,24 h,48 h and 72 h mean triticale H01-4 was stressed with PEG for 0 h, 24 h, 48 h and 72 h. RW48 h mean 48 h after rewatering. WS 48 h mean treated again with PEG for 48 h.

图 3 水分胁迫下小黑麦叶片蛋白质的 SDS-PAGE 图谱

Fig 3 SDS-PAGE in protein from triticale leaves under water stress

#### 3.2 水分胁迫对小黑麦叶片蛋白质的影响

近年来有关胁迫条件下“胁迫蛋白”的出现及其功能的研究已成为植物抗性研究领域的热点,但结论并不统一。抗旱品种可能产生更多的蛋白质或者细胞内一些结构蛋白在缺水的情况下被蛋白水解酶分解,增加细胞内的干旱诱导蛋白质以抵抗缺水的威胁。它的最终结果使细胞内正常的

新陈代谢得以维持,从而发挥了植物正常的生理功能,在干旱条件下能维持正常的产量,在外观上表现出抗旱的性状。与此相反,非抗旱品种在同样的条件下蛋白质不能产生或者不能维持正常的可溶性蛋白的浓度,抵抗缺水的能力就小得多,外观上表现为弱抗旱性或干旱敏感性。本实验中小黑麦在干旱胁迫下蛋白质发生了变化,说明与水分胁迫有关的基因启动表达,一些基因的表达增强导致一些新蛋白质的出现或发生量的变化。同时,一些胁迫前正常表达的基因表达受阻或表达减弱,致使一些原有的蛋白消失或减少。

#### 3.3 小黑麦抗旱性的复杂性

由于植物在一定逆境条件下的抗性是受多基因调控的,因此干旱对植物的影响和植物对干旱的适应都是十分复杂的过程,不同品种、不同生育期的抗旱机制可能不同。评价小黑麦抗旱性还需要从多方面进行综合评定,全面分析不同品种的抗旱机制,确定不同类型的抗旱种质资源,从而为小黑麦抗旱育种奠定基础。

#### 参考文献:

- [1] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义[J]. 植物生理学通讯,1984,(1):15-21.
- [2] 齐永青,肖凯,李雁鸣. 植物在渗透胁迫下脯氨酸积累的研究进展[J]. 河北农业大学学报,2003,26(5):24-27.
- [3] 杨好伟,姚秋菊,刘学芝. 干旱胁迫对不同生育期冬小麦叶片蛋白质及核酸含量的影响[J]. 河南农业大学学报,2001,35(9):1-3.
- [4] 徐民俊,刘桂茹,扬学举,等. 水分胁迫对抗旱性不同冬小麦品种可溶性蛋白质的影响[J]. 干旱地区农业研究,2002,20(3):85-92.
- [5] 西北农业大学植物生理生化教研室. 植物生理实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1987.
- [6] 任东涛,赵松岭. 水分胁迫对半干旱区春小麦旗叶蛋白质代谢的影响[J]. 作物学报,1997,23(4):468-472.
- [7] Singh T N, Aspinall D, Paleg L G. Proline accumulation and varical adaptability to drought in barley: a potential metabolic measure of drought resistance[J]. Nature New Biol., 1972, 236:188-190.
- [8] 洪法水,李燮和. 自然干旱胁迫下小麦品种游离脯氨酸积累与抗旱性的关系[J]. 安徽农业科学,1991,(4):311-314.