

干旱胁迫下小麦幼苗蛋白质和脯氨酸含量分析

陈军, 高贵珍, 方雪梅, 王维维, 王鑫 (宿州学院化学与生命科学学院, 安徽宿州 234000)

摘要 为研究干旱胁迫下小麦幼苗蛋白质和脯氨酸含量变化, 进而探明不同品种小麦抗旱性差异, 采用 15% PEG-6000 渗透胁迫, 检测 20 个小麦品种幼苗蛋白质和脯氨酸含量。结果表明, 渗透胁迫下, 不同品种小麦幼苗蛋白质含量对照组均高于 15% PEG 处理组, 品种间蛋白质含量变化率差异较大; 不同品种小麦幼苗处理组脯氨酸含量均高于对照组, 品种间脯氨酸含量变化率差异也较大; 不同品种间处理组与对照组小麦幼苗蛋白质、脯氨酸含量差异均极显著; 20 个小麦品种中金麦 8 号、淮麦 21 和淮麦 22 具有较强的抗旱性。

关键词 干旱胁迫; 蛋白质; 脯氨酸

中图分类号 S423 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)26-10577-02

Analysis of Seeding Protein and Proline Content under Drought Stress in Wheat

CHEN Jun et al (College of Chemical and Life Science, Suzhou University, Suzhou, Anhui 234000)

Abstract The seeding protein and proline content in 20 wheat varieties was studied under osmotic stress by 15% PEG-6000, in order to find difference of different varieties and change of seeding protein and proline content under drought stress in wheat. The results showed that the seeding protein content in the control group showed increase compared with the treatment group and had significant difference on change rate among different varieties and that the seeding proline content in the treatment group showed increase compared with the control group and had significant difference on change rate yet. The seeding protein and proline content in different varieties had highly significant difference in the treatment group and the control group. The Jinmai 8, Huaimai 21 and Huaimai 22 had the higher drought resistance among 20 varieties.

Key words Drought stress; Protein; Proline

我国小麦播种区大多处于干旱或半干旱区, 干旱胁迫条件下, 小麦相关基因受到激活并表达产生干旱胁迫蛋白, 主动适应干旱环境、维持个体存活和产量形成。石峰^[1]等研究发现, 小麦抗旱品种抽穗期水分胁迫后产生了一种低分子量的 D-应答蛋白, 分子量为 66.2 kD 左右, 并且与品种的抗旱性密切相关。干旱引起的渗透胁迫是限制植物生长和产量提高的重要因子, 已有研究证明蛋白质在植物细胞适应胁迫过程中起重要作用, 蛋白质的作用表现为细胞内渗透调节剂、还原剂或能量来源、N 素储藏物质、羟基自由基清除剂, 细胞内酶的保护剂以及降低细胞内酸度和调节氧化还原电势等^[2]。为此, 笔者利用 15% PEG-6000 高渗溶液模拟干旱胁迫条件, 对 20 个不同品种小麦幼苗进行蛋白质含量和脯氨酸含量的比较分析, 以期小麦抗旱种质资源筛选及抗旱育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 20 个小麦品种: 淮麦 21、淮麦 22、开麦 18、皖麦 56、皖麦 52、皖麦 18、泰农 18、百农矮抗、金麦 8 号、徐麦 30、徐麦 856、郑育麦 9987、矮抗 58、济麦 19、烟农 19、洲元 9369、豫农 035、连麦 2 号、新麦 18、郑麦 004。上述材料于 2011 ~ 2012 年度种植于宿州学院试验田, 采用小区撒播种植, 田间管理与大田一致。

1.2 方法

1.2.1 幼苗培养。 挑选籽粒饱满的小麦种子, 用自来水冲洗, 除去灰尘和杂质后, 用 3% 的双氧水消毒, 自来水漂洗数次, 然后将小麦种子放在培养皿中用自来水浸泡至膨胀露

白。选取露白后发芽一致的种子 120 粒, 平均放入 2 组培养皿中, 依次标记 1、2...20 和 1 对照、2 对照...20 对照, 放入培养箱中培养, 待幼苗长至 2 ~ 3 cm 时, 从处理组培养皿中吸出蒸馏水并加入 15% PEG-6000 胁迫处理 3 d, 然后剪取小麦叶片放入 -70 °C 冰箱内保存备用。

1.2.2 蛋白质含量测定。 采用考马斯亮蓝法^[3]。取小麦叶片 0.300 g 于研钵中, 加入 300 μl 75 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 7.8), 冰浴研磨后, 以 8 000 r/min、4 °C 条件下离心 20 min, 取上清液加入离心管中, 移入 300 μl 的蛋白提取液 (0.1 mol/L Tris-HCl pH 8.0, 4% SDS, 20% 甘油, 30 μl β-巯基乙醇), 漩涡振荡数秒, 置于 4 °C 冰箱放置 1 d, 再以 8 000 r/min、4 °C 离心 5 min, 吸取上清液于洁净的离心管中待测。

取 200 μl 上述上清液于 10 ml 的容量瓶中定容, 取 2 ml 于试管中并加入考马斯亮蓝液 5 ml 摇匀, 静置 5 min, 分别吸取 300 μl 的磷酸钠缓冲液和 300 μl 的蛋白提取液于试管中, 加入 5 ml 考马斯亮蓝, 再倒入比色皿中作为空白对照, 用 722 型分光光度计测定吸光度。

1.2.3 脯氨酸含量测定。 采用 Troll 酸性茚三酮显色法^[4]。称取 0.300 g 小麦叶片置于试管中, 加入 5 ml 3% 的磺基水杨酸溶液, 在沸水浴中提取 10 min, 冷却后过滤, 滤液即为脯氨酸提取液。取 2 ml 提取液于试管中, 加入 2 ml 冰醋酸及 2 ml 酸性茚三酮试剂, 在沸水浴中加热 30 min。冷却后加入 4 ml 甲苯, 振荡 30 s, 静置片刻, 取上层液至 10 ml 离心管中, 在 3 000 r/min 下离心 5 min。用移液器吸取上层脯氨酸红色甲苯溶液于比色皿中, 用 722 型分光光度计测溶液吸光度。

1.3 数据分析 用 Excel 和 SPSS 统计分析程序对数据进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下不同品种小麦幼苗蛋白质含量分析 由表 1 可看出, 对照组不同品种小麦幼苗的蛋白质含量均高于

基金项目 安徽省教育厅自然科学基金项目 (KJ2012B188); 宿州学院一般科研项目 (2011yyb13)。

作者简介 陈军 (1980 -), 男, 安徽萧县人, 硕士, 讲师, 从事小麦遗传育种研究, E-mail: cj998001@163.com。

收稿日期 2013-07-15

15% PEG 处理组,开麦 18、郑育麦 9987 蛋白质含量的变化率较大,烟农 19、泰农 18 和徐麦 856 蛋白质含量的变化率较小,对照组与处理组小麦品种间蛋白质含量的变异系数分别为 23.84% 和 21.67%,但对对照组与处理组蛋白质含量变化率差异较大,其变异系数为 93.99%。可见不同品种小麦蛋白质含量受干旱影响的程度差异较为明显。

表 1 小麦幼苗蛋白质含量分析

| 小麦品种 | 蛋白质含量//% | | 变化率 % |
|----------|----------|-------|----------|
| | CK | 处理 | |
| 徐麦 856 | 23.25 | 22.68 | 2.51 |
| 皖麦 18 号 | 25.50 | 23.48 | 8.60 |
| 淮麦 22 | 20.53 | 19.42 | 5.72 |
| 烟农 19 | 31.27 | 30.82 | 1.46 |
| 郑育麦 9987 | 26.98 | 19.07 | 41.48 |
| 徐麦 30 | 24.72 | 22.47 | 10.01 |
| 皖麦 56 | 22.57 | 21.22 | 6.36 |
| 皖麦 52 | 26.42 | 21.10 | 25.21 |
| 豫农 035 | 21.67 | 20.43 | 6.07 |
| 金麦 8 号 | 31.27 | 22.80 | 37.15 |
| 洲元 936 | 28.55 | 25.40 | 12.40 |
| 济麦 19 | 26.42 | 22.47 | 17.58 |
| 泰农 18 | 24.38 | 23.93 | 1.88 |
| 淮麦 21 | 31.83 | 30.58 | 4.09 |
| 百农矮抗 | 37.70 | 30.48 | 23.69 |
| 矮抗 58 | 24.03 | 23.25 | 3.36 |
| 郑麦 004 | 43.47 | 40.42 | 7.55 |
| 开麦 18 | 43.47 | 30.37 | 43.13 |
| 连麦 2 号 | 30.93 | 22.57 | 37.04 |
| 新麦 18 号 | 20.98 | 19.52 | 7.48 |
| 变异系数//% | 23.84 | 21.67 | 93.99 |

表 2 小麦幼苗脯氨酸含量分析

| 小麦品种 | 脯氨酸含量//% | | 变化率 % |
|----------|----------|-------|----------|
| | CK | 处理 | |
| 徐麦 856 | 3.42 | 7.48 | 118.57 |
| 皖麦 18 号 | 4.05 | 6.70 | 65.43 |
| 淮麦 22 | 2.96 | 3.40 | 14.86 |
| 烟农 19 | 0.16 | 0.47 | 191.88 |
| 郑育麦 9987 | 3.58 | 4.68 | 30.59 |
| 徐麦 30 | 1.40 | 2.37 | 69.07 |
| 皖麦 56 | 1.56 | 3.28 | 109.94 |
| 皖麦 52 | 4.68 | 7.17 | 53.10 |
| 豫农 035 | 0.78 | 1.40 | 79.49 |
| 金麦 8 号 | 6.23 | 6.38 | 2.46 |
| 洲元 936 | 11.53 | 15.77 | 36.75 |
| 济麦 19 | 4.98 | 10.28 | 106.43 |
| 泰农 18 | 2.65 | 3.86 | 45.66 |
| 淮麦 21 | 16.98 | 19.19 | 13.02 |
| 百农矮抗 | 14.64 | 17.92 | 22.40 |
| 矮抗 58 | 6.54 | 8.41 | 28.61 |
| 郑麦 004 | 0.62 | 0.93 | 50.48 |
| 开麦 18 | 1.87 | 2.33 | 24.76 |
| 连麦 2 号 | 11.06 | 16.20 | 46.47 |
| 新麦 18 号 | 3.12 | 5.30 | 69.87 |
| 变异系数//% | 92.88 | 80.97 | 78.50 |

2.2 干旱胁迫下不同品种小麦幼苗脯氨酸含量变化分析 由表 2 可知,不同品种小麦幼苗处理组脯氨酸含量均高于对照组,徐麦 856、烟农 19、皖麦 56 和济麦 19 的脯氨酸含

量变化率较大,这 4 种小麦抗旱性较弱;而金麦 8 号、淮麦 21 及淮麦 22 脯氨酸含量变化率较小,可见这 3 种小麦抗旱性较强。对照组和处理组小麦品种间的脯氨酸含量变异系数都较大,分别为 92.88% 和 80.97%。

2.3 干旱胁迫下不同品种小麦幼苗蛋白质、脯氨酸含量变化方差分析 由表 3、表 4 可知,小麦幼苗蛋白质、脯氨酸含量方差分析中,不同品种小麦幼苗蛋白质含量变化 F 值 $> F_{0.01}$,差异达极显著水平,小麦幼苗脯氨酸含量变化 F 值 $> F_{0.01}$,差异也达到极显著水平,说明品种是影响小麦幼苗蛋白质含量、脯氨酸含量的主要因素之一。

表 3 不同品种小麦幼苗蛋白质含量变化方差分析

| 差异源 | 自由度 | 均方 | F 值 | $F_{0.01}$ |
|-----|-----|-------|--------|------------|
| 处理 | 19 | 67.69 | 5.31** | 2.96 |
| 对照 | 20 | 12.75 | | |
| 总计 | 39 | | | |

表 4 不同品种小麦幼苗脯氨酸含量变化方差分析

| 差异源 | 自由度 | 均方 | F 值 | $F_{0.01}$ |
|-----|-----|-------|---------|------------|
| 处理 | 19 | 55.21 | 16.54** | 2.96 |
| 对照 | 20 | 3.33 | | |
| 总计 | 39 | | | |

3 讨论

作物干旱逆境条件下,产生的生理反应是多方面的,该研究选取干旱胁迫下小麦幼苗蛋白质和脯氨酸含量变化,从分析结果看,不同品种小麦在同样干旱胁迫下,幼苗蛋白质和脯氨酸含量变化存在一定差异。已有研究表明,抗旱性强的小麦品种干旱逆境下脯氨酸含量变化较小^[5],可见该研究选取的 20 个品种中,金麦 8 号、淮麦 21 和淮麦 22 具有较强的抗旱性。干旱胁迫下 20 个品种间,开麦 18、郑育麦 9987 幼苗蛋白质含量变化率较大,可能是干旱逆境下这 2 个品种幼苗蛋白表达受到影响所致,具体影响了哪些蛋白的表达还需进一步研究分析。该研究表明,干旱胁迫组与对照组不同品种小麦幼苗蛋白质、脯氨酸含量变化均达到极显著水平,可以认为利用基因型筛选抗旱品种是有效的,因此,金麦 8 号、淮麦 21 和淮麦 22 小麦品种可以作为抗旱品种利用,但由于该研究利用的品种有限,是否有其他抗旱性更强的品种,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 石峰,谢惠民,张晓晓. 冬小麦不同抗旱品种抽穗期干旱诱导蛋白差异与抗旱性的研究[J]. 麦类作物学报,2005,25(3):32-36.
- [2] 张林刚,邓西平. 小麦抗旱性生理生化研究进展[J]. 干旱地区农业研究,2000,18(3):87-92.
- [3] 王文平,郭祀远,李琳,等. 考马斯亮蓝法测定野木瓜多糖中蛋白质的含量[J]. 食品研究与开发,2008,29(1):115-116.
- [4] 赵英永,戴云,崔秀明,等. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定草乌中可溶性蛋白质含量[J]. 云南民族大学学报,2006,15(3):235-237.
- [5] 孔祥生,郭秀璞,张妙霞,等. 渗透胁迫对小麦萌发生长及某些生理生化特性的影响[J]. 麦类作物学报,1998,18(4):35-38.