

# 多胺延缓水分胁迫下小麦幼苗衰老机制的探讨

岳艳玲

李广敏

(河北农业大学生物技术中心, 保定 071001)

(河北省农林科学院, 石家庄 050051)

商振清

檀建新

韩建民

(河北农业大学农学系, 保定 071001)

**摘 要** 研究了在土壤自然干旱的水分胁迫条件下, 干旱诱导的小麦叶片衰老与小麦叶片内源多胺水平之间的关系。结果表明, 土壤干旱促进小麦幼苗衰老, 不同处理间内源多胺水平与水分、蛋白质和核酸代谢之间存在一定的相关性, 较高的内源多胺水平有利于小麦叶片在水分胁迫过程中保持较好的水分状况, 延缓蛋白质和核酸的降解。

**关键词** 水分胁迫 小麦 衰老 内源多胺

多胺是普遍存在于植物体内的一类低分子量脂肪族含氮碱, 在生理条件下, 它们带正电荷, 可与带负电荷的核酸、酶、结构蛋白以及细胞功能团发生作用, 调节着植物的生长发育, 形态建成和抗逆性<sup>[13]</sup>。Liguori 等<sup>[11]</sup>用 X-衍射法证明, 腐胺和精胺与 DNA 双螺旋体结合稳定了 DNA 二级结构, 提高了它对热变性和对 DNase 作用的抵抗力。干旱能够加速叶片的衰老, 这已在许多种作物上有过报道<sup>[7]</sup>。水分胁迫通过对水分代谢的原初影响, 进而影响蛋白质和核酸等代谢过程。多胺的抗衰老效应也有一些报道, 但结论颇不一致<sup>[9, 12]</sup>。本文就不同处理导致的不同内源多胺水平以及 put/spd 值与水分胁迫过程中小麦叶片水分、蛋白质、核酸代谢的相关性进行了探讨, 为延缓旱促衰老, 提高植物的抗旱性提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与设计

材料选用小麦(*Triticum aestivum* L. cv.) 品种冀麦 24 的籽粒饱满、大小适中的种子, 经消毒、浸种、催芽后, 于含耕层土的底部具孔塑料盆中培养至二叶一心时, 叶面喷施 0.1m mol/L spm、1.0m mol/L MGBG、10.0m mol/L D-Arg 和蒸馏水(对照), 每晚喷施一次, 连喷 3 天, 第 4 天停止供水, 进行土壤自然干旱的水分胁迫处理, 胁迫 0~96h 后取幼苗第一叶作实验。

### 1.2 检测项目及方法

相对含水量测定采用文献<sup>[3]</sup>方法; 叶水势测定用压力室法<sup>[11]</sup>; 全蛋白测定用杨浚<sup>[4]</sup>的方法。蛋白酶活性测定 参照Chrispeels等<sup>[12]</sup>的方法, 用柠檬酸-磷酸缓冲液冰浴研磨 0.5g

鲜材料, 4 ℃ 下 12000g 离心 20min, 底物为 1% 酪蛋白, 底物和酶液于 37 ℃ 水浴 2h 后加 15% TCA 终止反应, 去除沉淀出的蛋白质, 上清液用茚三酮显色法在 570nm 处测  $A_{570}$ , 酶活性表示为  $A_{570} \cdot g^{-1}dw \cdot h^{-1}$ 。

核酸测定 RNA、DNA 提取参照 Cherry 法<sup>[5]</sup>, 新鲜材料用冷甲醇匀浆, 离心, 沉淀依次用过氯酸、冷乙醇和醇 醚(2 : 1) 混合液洗涤、离心, 而后再用 5% 高氯酸水解沉淀 (75 ℃ , 0. 5h), 离心所得上清液用 DU 650 分光光度计测定  $U_{v260\mu m} \sim 280\mu m$  测总核酸量, 用二苯胺法测 DNA 含量。

DNase 和 RNase 活性测定 按吴登如<sup>[12]</sup>的方法进行提取和测定, 酶单位为  $0. 1OD \cdot g^{-1}dw \cdot h^{-1}$  (37 ℃ )。

多胺测定 参照 Smith 的方法<sup>[14]</sup>用高效液相色谱法测定, 测定时取 0. 5g 冰冻材料加 3ml5% 高氯酸, 于冰浴下研磨提取, 以 27000×g 于 4 ℃ 下离心 20min, 上清液经丹磺化 (60 ℃ , 黑暗反应 1h) 后, 再以乙酸乙酯提取, 减压蒸干后用 1ml 甲醇定溶, 过滤后高效液相色谱检测。激发波长 337nm, 发射波长 495nm, 柱压 3000kg/cm<sup>2</sup>, Waters RCM 8×10 柱, 流动相为水和甲醇, 流速 1ml/min, 梯度淋洗。

精胺、D-精氨酸、甲基乙二醛双-(脒基脒) 为 Sigma 公司产品。

2 结果与分析

2. 1 水分胁迫下外源多胺合成抑制剂对小麦叶片水分状况的影响

随着土壤含水量的下降, 小麦叶片水势和相对含水量(RWC) 显著降低( 图 1), 各处理变化趋势基本一致。spm 处理的叶水势和 RWC 均好于其它处理, 其次是 D-Arg 处理, MGBG 处理 0~48h 叶水势和 RWC 低于对照, 但 48h 以后, 渐好于对照, 且各处理间叶水势和 RWC 差异均比较明显, 说明不同的内源多胺水平与小麦叶片水分状况有一定相关性。

表 1 水分胁迫下不同处理间内源多胺水平(put+ spd) 和 put/spd 情况\*

处 理	处 理 时 间					
		0h	24h	48h	72h	96h
H <sub>2</sub> O	put+ spd	0. 693	0. 630	0. 527	0. 529	0. 415
	put/spd	1. 280	0. 875	1. 075	1. 568	2. 879
spm	put+ spd	0. 772	0. 788	0. 760	0. 705	0. 607
	put/spd	1. 271	1. 005	0. 944	1. 545	2. 097
MGBG	put+ spd	0. 714	0. 745	0. 693	0. 667	0. 530
	put/spd	1. 746	1. 399	1. 278	1. 616	1. 912
D-Arg	put+ spd	0. 765	0. 705	0. 656	0. 623	0. 460
	put/spd	1. 217	0. 780	0. 858	1. 378	2. 382

\* 单位( spd+ put)  $\mu g \cdot g^{-1}DW$

2. 2 水分胁迫下外源多胺和多胺合成抑制剂对小麦叶片蛋白质代谢的影响

蛋白质加速水解是组织衰老的重要标志<sup>[8]</sup>。随着胁迫时间的延长, 小麦叶片中水溶性蛋白和非水溶性蛋白含量均显著降低, 蛋白酶活性升高( 图 2)。从图 2 可以发现, spm 处理的水溶性蛋白和非水溶性蛋白均高于其它处理, 蛋白酶活性低于其它处理, D-Arg 处理居中, MGBG 处理的水溶性蛋白 24h 前低于对照, 24h 后渐高于对照, 非水溶性蛋白 48h 前低于对照, 而

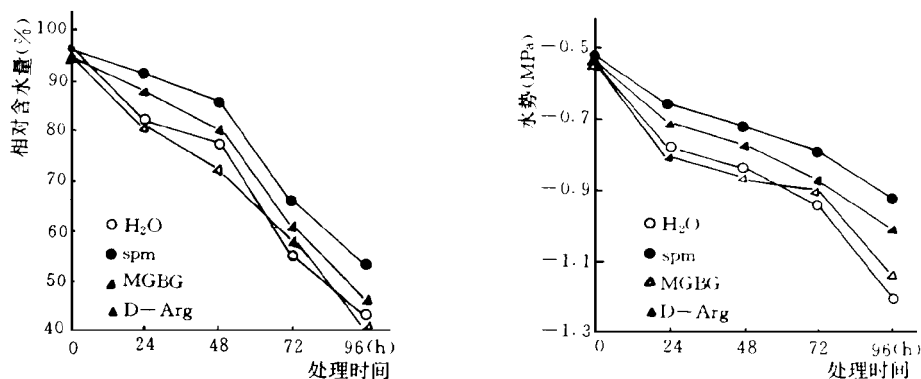


图1 水分胁迫下小麦叶片相对含水量和叶片水势的变化

48h 后渐高于对照, 蛋白酶的趋势与非水溶性蛋白恰好相反, 且各处理间相比, 非水溶性蛋白差异较显著。说明不同处理导致的不同内源多胺水平影响水分胁迫过程中的蛋白质代谢。

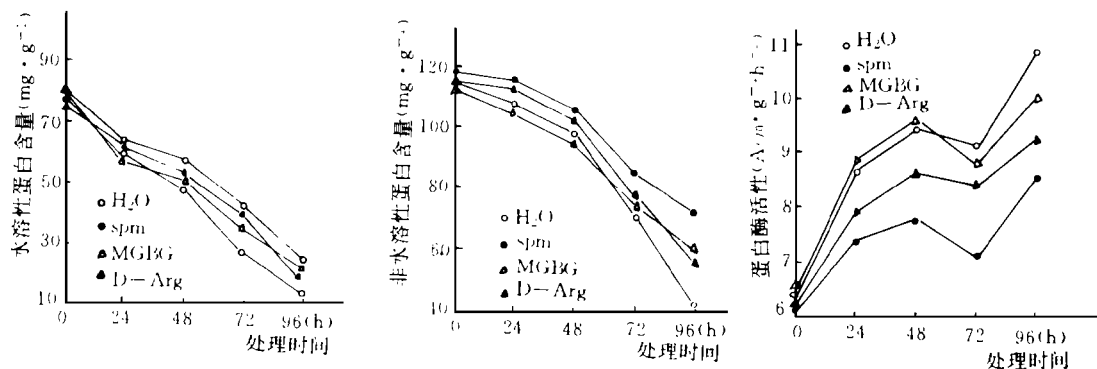


图2 水分胁迫下小麦叶片中水溶性蛋白、非水溶性蛋白含量和蛋白酶活性的变化

### 2.3 水分胁迫下外源多胺和多胺合成抑制剂对小麦叶片核酸代谢的影响

核酸是生活细胞内贮存和传递遗传信息的生物大分子, 用 spm 和 D-Arg 及 MGBG 处理小麦幼苗, 在水分胁迫条件下核酸代谢与对照相比有一定差别(图 3)。spm 处理和 D-Arg 处理有比其它处理较高的 DNA 和 RNA 含量和较低的 DNase 和 RNase 活性, 其中 spm 处理又好于 D-Arg 处理。MGBG 处理 48h 前有比对照较低的 DNA 和 RNA 含量和较高的 DNase 和 RNase 活性, 但 48h 后渐有相反关系。结果表明, 水分胁迫诱导的早促衰老过程中, 内源多胺与核酸代谢有一定的相关性。

## 3 讨论

衰老是导致植物自然死亡的代谢上一系列的衰败过程。本试验结果说明, 干旱加速了植物的衰老, 这与一些人的研究结果<sup>[6]</sup>是相似的。而多胺在抗衰老中的作用十分复杂。外源 spm 处理提高了小麦叶片内源 put 和 spd 的含量, 且水分、蛋白质、核酸等衰老指标均好于其它处理, 因此认为外源 PAs 可能部分通过影响内源多胺的变化而起防衰抗逆的保护作用。

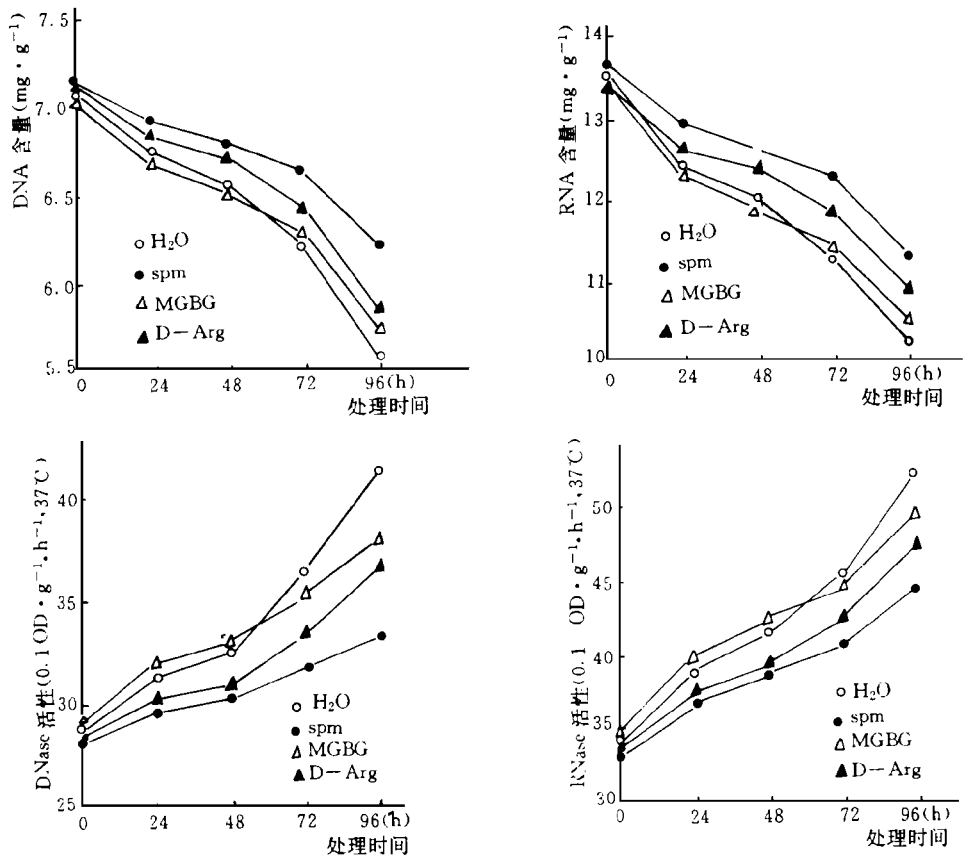


图3 水分胁迫下小麦叶片中DNA含量、RNA含量、DNase活性和RNase活性变化情况

本研究还表明,不同外源处理导致的不同内源多胺水平及put/spd比值,与干旱诱导的衰老过程中小麦叶片中水分、蛋白质和核酸代谢有一定的相关性,较高的内源多胺水平及较低的put/spd值能够延缓干旱诱导的衰老过程中水分丢失和蛋白质、核酸的减少,从而延缓衰老。我们还用spm处理与对照间的内源PAs差异( $X_1$ )、put/spd差异( $X_2$ )对两种处理各衰老指标差异做了通径分析,结果表明, $X_2$ 的直接通径系数几乎都大于 $X_1$ 的直接通径系数(例如, $X_1$ 、 $X_2$ 对水势差异的直接通径系数分别为0.3724和-0.7168)。因此我们推断,在延缓旱促小麦叶片衰老进程中,spd的生理功能应大于put,这些结果可能与多胺迅速结合于膜上相关,并且至少部分地通过抑制乙烯合成而发挥它们的抗衰老作用。这与前人的研究结果有相似之处<sup>[8,10]</sup>。

当然,衰老的抑制并不能简单地归结为某种多胺的变化,但内源多胺确实同旱促小麦叶片衰老有着一定的联系,通过一定的外源多胺处理提高内源多胺水平,可以由内源多胺对水分、蛋白质和核酸代谢的调节而延缓旱促衰老进程。

### 参 考 文 献

- 1 王万里.压力室在植物水分状况研究中的应用.植物生理学通讯,1983,(3):52~57
- 2 吴登如,赵毓橘.表油菜素内脂对绿豆上胚轴核酸代谢的影响.植物生理学报,1993,19(1):49~52
- 3 西北农业大学植物生理学教研室编.植物组织含水量的测定.见:植物生理学实验指导.西安:陕西教育出

版社, 1987, 1~2

- 4 杨浚, 俞炳果. 精胺对离体大麦叶片中蛋白质含量的影响. 植物生理学通讯, 1989, (2): 42~44
- 5 Joe H Cherry. Nucleic acid determination in storage tissues of higher plant. *Plant Physiol*, 1962, 37: 670~678
- 6 Fischer RA et al. *Aust J Agric Res*, 1996, 17: 281~195
- 7 Harry Mussell et al. *Stress physiology in crop plants*. Interscience. 1979.
- 8 Kaur-sawhney R et al. Dual mechanisms in polyamine-mediated control of ribonuclease activity in oat leaf protoplasts. *Plant Physiol*, 1978, 62: 158~160
- 9 Kaur-sawhney R et al. Relation of polyamine synthesis and titer to aging and senescence in oat leaves. *Plant Physiol*, 1982, 69: 405~410
- 10 Kaur-sawhney R et al. Inhibition of protease activity by polyamines. *FEBS Lett*, 1982, 145: 345~349
- 11 Liquori AM et al. Complexes between DNA and polyamines: A molecular model. *J Mol Biol*, 1967, 24: 113~122
- 12 Maarten JC et al. Control of storage protein metabolism in the cotyledons of germinating mung beans: role of endopeptidase. *Plant Physiol*, 1975, 55: 1031~1037
- 13 Robert DS et al. The physiology and biochemistry of polyamines in plant. *Arch Biochem Biophys*, 1984, 235~303
- 14 Smith MA et al. Separation and quantitation of polyamines in plant tissue by high performance liquid-chromatography of their dansyl derivatives. *Plant Physiol*, 1985, 78: 89~91

## A Study on Mechanism of Wheat Seedling Senescence Retardation by Polyamines under Water Stress

Yue Yanling

(Centre of Biological Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071001)

Li Guangmin

(Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051)

Shang Zhenqing Tan Jianxin Han Jianmin

(Hebei Agricultural University, Baoding)

**Abstract** Relation of the levels of endogenous polyamines (PAs) and senescence of leaves of wheat induced by drought was studied under water stress of natural soil drought. The results indicated that soil drought could bring about the senescence of wheat seedling, some correlations between the level of endogenous PAs and water status, protein and nucleic acid metabolism existed, and the high level of endogenous PAs might help in maintenance of better water status in wheat leaves and in relief of hydrolysis of protein and nucleic acid during water stress.

**Key words:** Wheat; Seedling; Water stress; Senescence; Endogenous polyamines