

梁 燕. 非淹涝与淹涝环境对水稻和陆稻幼根乙醇脱氢酶 3 表达的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 22–23.

# 非淹涝与淹涝环境对水稻和陆稻幼根乙醇脱氢酶 3 表达的影响

梁 燕

(南通高等师范学校, 江苏南通 226001)

**摘要:**研究淹涝与非淹涝处理对水稻和陆稻幼根中乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase 3, ADH3)表达的影响, 结果表明, 水稻非淹涝组 ADH3 表达变化不显著, 淹涝组 ADH3 表达在 48 h 后急剧升高; 而陆稻不论是淹涝组还是淹涝组, 12、24、48、96 h ADH3 表达变化不显著。水稻幼根 ADH3 的表达对水环境变化的敏感性高于陆稻, 水稻与陆稻对水/旱逆境的适应性机制存在差异。

**关键词:**水稻; 陆稻; 淹涝; ADH3

**中图分类号:** S511.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)09–0022–02

世界上近一半人口都以稻米为食。按照栽培方式和生长期需水量的不同, 稻可分为水稻和陆稻。水稻种植在水田里。陆稻也称旱稻, 一般种植于旱地, 依赖雨水生长或辅以少量灌溉, 一生灌水量仅为水稻的 1/4 ~ 1/10。水稻和陆稻是同属同种的不同品系, 二者形态差异较小, 生理差异较大。水稻和陆稻在解剖、生理、根系发育以及根系蛋白质含量等方面都存在差别。水稻和陆稻在不同水分处理下产量变化及其构成因子不同<sup>[1]</sup>。乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)是乙醇代谢的主导酶, 能催化乙醛和乙醇的氧化还原反应, 在植物无氧呼吸中起着重要作用。研究表明, 乙醇脱氢酶与植物的抗逆性相关<sup>[2]</sup>。本研究比较了同一种属的 2 个不同品系——水稻嘉花 1 号和陆稻旱优湘晴在不同水环境下 ADH3 表达的变化, 旨在为水稻和陆稻抗逆机理研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期: 2013–03–18

作者简介: 梁 燕(1971—), 女, 副教授, 主要从事分子遗传学研究。

E-mail: liyan8888@163.com。

含有 *Yr10* 基因, 这些抗性材料中的抗性可能由其他抗性基因或抗性相关基因所决定。

### 参考文献:

- [1] Line R F. Stripe rust of wheat and barley in North America: a retrospective historical review[J]. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40: 75–118.
- [2] Li Z Q, Zeng S M. Wheat rust in China[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2002: 1–3.
- [3] Andersen J R, Lübberstedt L. Functional markers in plants[J]. Trends in Plant Science, 2003, 8(11): 554–560.
- [4] 贺道华, 雷忠萍, 邢宏宜. 功能标记的开发、特点和应用研究进展[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(1): 110–116, 121.

将嘉花 1 号水稻种子(江苏沿江地区农业科学研究所提供)与旱优湘晴陆稻种子(上海农业生物基因中心提供)分别置于培养皿内的滤纸上, 加入 1/2 Hoagland 营养液, 室温下促发芽。待幼根长至 1 cm 时, 将幼苗移植于花盆中, 随机分为淹涝组和非淹涝组。2 组均置于室温下, 淹涝组为常规湿润土壤条件, 淹涝组将花盆淹没于水中, 水面高出土壤表面 1 cm。各组分别在试验开始后 0、12、24、48、96、192 h 取 10 根 0.5 cm 长根尖进行研究。

### 1.2 主要试剂与仪器

RNAiso Plus 总 RNA 提取试剂盒, SYBR® PrimeScript™ RT–PCR Kit (TaKaRa 公司), 引物由上海英骏公司合成, ABI 7500 Realtime–PCR System(美国应用生物系统公司), 其他化学试剂均为进口或国产分析纯, 水由 Millipore 纯水仪制备。

### 1.3 方法

**1.3.1 总 RNA 提取** 取 10 根长约 0.5 cm 根尖置于研钵中, 加入 1 mL RNAiso Plus, 充分研磨, 至裂解液呈透明状。转入离心管中, 室温下静置 5 min, 加入 0.2 mL 氯仿, 振荡混匀, 室温下静置 5 min, 12 000 r/min 离心 15 min 后吸取上清液, 加入等体积异丙醇, 混匀后室温下静置 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 用 75% 乙醇洗涤沉淀, 12 000 r/min

- [5] Metzger R J, Silbaugh B A. Inheritance of resistance to stripe rust and its association with brown glume color in *Triticum aestivum* L., ‘P. I. 178383’[J]. Crop Science, 1970, 10(5): 567–568.
- [6] Wang F L, Wu L R, Xu S C. The discovery and studies on new races CYR30 and CYR31 of wheat stripe rust in China[J]. Journal of Plant Protection, 1996, 23(1): 39–44.
- [7] 夏先春, 何心尧, 孙道杰, 等. 小麦品质基因功能标记的开发与应用[C]//2009 年全国植物分子育种学术研讨会, 2009: 59–61.
- [8] 王 丰, 李金华, 柳武革, 等. 一种水稻香味基因功能标记的开发[J]. 中国水稻科学, 2008, 22(4): 347–352.
- [9] Fulon T M, Van der Hoeven R, Eannetta N T, et al. Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants[J]. Plant Cell, 2002, 14(7): 1457–1467.

离心 5 min, 弃乙醇, 然后用适量 DEPC 水溶解 RNA。

1.3.2 反转录反应 取各个样品总 RNA 1 μL, 依次加入 2 μL 5 × Buffer, 0.5 μL Mix, 0.5 μL 随机引物, DEPC 水补足至 10 μL, 37 °C 保温 15 min, 85 °C 10 s 终止反应, -20 °C 保存。

1.3.3 Real - time PCR 反应 根据 GenBank 注册的目的基因 *ADH3* (AB267278) 和内参基因 *Actin* (X16280) 序列, 应用 NCBI Primer - blast 工具设计引物。*ADH3* 正向引物为 5' - AGGGGTGACGGAGCTTTCCC - 3', 反向引物为 5' - AGTCGCGCCAAATCCGGTGG - 3', 预期产物长度为 323 bp; *Actin* 正向引物为 5' - TGTATGCCAGTGGTCGTACCCA - 3', 反向引物为 5' - TCACAATTTCCCGCTCGGCCG - 3', 预期产物长度为 204 bp。

各 cDNA 样品分别以 ADH 和 Actin 为引物进行荧光定量 PCR 反应。反应体积为 25 μL; Mix (2 ×) 12.5 μL, 正反向引物各 1 μL, cDNA 模板 2 μL, 无菌水 8.5 μL。将混合物充分混匀后平均分配到各反应管中。反应条件: 95 °C 30 s; 95 °C 10 s, 60 °C 34 s, 40 个循环。

1.3.4 Real - time PCR 数据分析 采用比较 CT 法 (ΔΔCT), 以 actin 为内参, 设 3 个重复管, 以 0 h 组为参考进行相对定量, 采用 ABI 7500 Software v2.0.4 软件处理数据。

2 结果与分析

经实时荧光定量 PCR 技术检测, 对照组与淹涝胁迫下水稻嘉花 1 号和陆稻旱优湘晴幼根的 ADH3 表达结果见表 1。

表 1 不同胁迫处理及不同处理时间下嘉花 1 号和旱优湘晴幼根 ADH3 表达

品种	处理	时间 (h)	ADH3 表达水平
嘉花 1 号	非淹涝	0	1.00 ± 0.19
		12	0.37 ± 0.12
		24	0.48 ± 0.13
		48	0.27 ± 0.11
		96	1.57 ± 0.28
	淹涝	192	1.13 ± 0.20
		12	3.75 ± 0.52 *
		24	6.62 ± 1.46 *
		48	1.94 ± 0.54 *
		96	20.74 ± 4.76 *
旱优湘晴	非淹涝	192	57.71 ± 13.41 *
	淹涝	0	1.00 ± 0.36
		12	1.24 ± 0.15
		24	0.51 ± 0.17
		48	0.76 ± 0.25
	淹涝	96	2.36 ± 0.45
		192	5.54 ± 0.82
		12	0.95 ± 0.37
		24	1.25 ± 0.32 *
		48	1.29 ± 0.37
	淹涝	96	1.82 ± 0.98
		192	0.60 ± 0.12 *

注: “\*” 代表相同品种相同时间 ADH3 表达水平淹涝与非淹涝差异显著。

由表 1 可知, 水稻嘉花 1 号在淹涝条件下, 随着栽培时间增长, ADH3 表达呈上升趋势, 48 h 后, ADH3 表达急剧升高, 192 h 后, ADH3 表达量较非淹涝组高出 51.1 倍。陆稻无论

是非淹涝组还是淹涝组, 12、24、48、96 h ADH3 表达差异不显著, 192 h 后, 非淹涝组 ADH3 表达显著升高, 淹涝组 ADH3 表达显著下降。

3 结论与讨论

水分是影响植物生长发育的主要环境因素之一, 也是稻作生产的首要限制因素。无论是水分亏缺还是淹涝都会给稻作生产造成不良影响, 可造成显著减产。近年来, 旱灾和洪涝灾害在世界各地频繁发作, 所造成的作物减产超过了其他所有非生物胁迫影响之和。近几年, 对水稻耐旱和耐淹涝机理研究已经不再局限于逆境下水稻生理生化特性变化、危害特点和表现等<sup>[3-4]</sup>, 开始逐渐向耐逆境的分子机理发展。研究主要集中在逆境条件下相关基因的调控与表达、基因定位和克隆等<sup>[5-9]</sup>。ADH 是植物组织中较为普遍存在的酶, 是植物非正常呼吸链的重要水解酶, 对乙醇代谢调控作用显著。Kato - Noguchi 等认为, ADH 与水稻低温耐受性有关<sup>[10]</sup>。但 ADH 的抗逆性机制尚不明确, 不同研究者对此有不同看法。Kennedy 认为, 受淹水稻不呈现巴斯德效应, 巴斯德效应是否呈现与植物是否耐涝无关, 受淹水稻的 ADH 活性上升, 但其耐涝能力与 ADH 活力水平和 ADH 同工酶数目之间并无必然联系<sup>[11]</sup>。赵森等发现, 淹涝胁迫下水稻 ADH2 表达变化明显<sup>[12]</sup>。本研究表明, 水稻和陆稻对逆境的适应程度不同, 抗逆境机制存在差异, ADH3 与水稻/陆稻的耐旱和耐淹涝性都可能相关, 具体机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] 史延丽, 刘 炜. 水旱栽培条件下水、陆稻生理特性与抗旱性的研究[J]. 宁夏农林科技, 2010(6): 34 - 35, 88.

[2] 祁忠占, 彭永康, 宋玖雪. 水稻、陆稻根系蛋白质含量和同工酶研究[J]. 华北农学报, 1993, 8(3): 1 - 8.

[3] 钱晓晴, 沈其荣, 徐 勇, 等. 不同水分管理方式下水稻的水分利用效率与产量[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3): 399 - 404.

[4] Magneschi L, Perata P. Rice germination and seedling growth in the absence of Oxygen[J]. Annals of Botany, 2009, 103(2): 181 - 196.

[5] 蔺万煌, 孙福增, 彭克勤, 等. 洪涝胁迫对水稻磷及钾营养的影响[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 1999, 25(4): 271 - 274.

[6] 李阳生, 李清清, 李达模, 等. 杂交稻与常规稻对涝渍环境适应能力的比较研究[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(1): 45 - 51.

[7] 李锦江, 肖国樱. 水稻耐淹涝分子育种研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3856 - 3857, 3860.

[8] 陈永华, 赵 森, 严钦泉, 等. 利用差异显示法研究水稻耐淹涝相关基因[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(6): 894 - 898.

[9] Xu K, Xu X, Ronald P C, et al. A high - resolution linkage map of the vicinity of the rice submergence tolerance locus Sub1[J]. Molecular & General Genetics, 2000, 263(4): 681 - 689.

[10] Kato - Noguchi H, Yasuda Y. Effect of low temperature on ethanolic fermentation in rice seedlings[J]. Plant Physiology, 2007, 164(8): 1013 - 1018.

[11] Kennedy R A, Rumpho M E, Fox T C. An aerobic metabolism in plants[J]. Plant Physiology, 1992, 100: 16 - 21.

[12] 赵 森, 陈永华, 陈 昊, 等. 荧光定量 PCR 检测淹涝胁迫下水稻 Adh2 基因的表达量变化[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2): 455 - 458.