

## 拟南芥组蛋白甲基化 *SDG26* 基因突变体抗旱生理生化研究

马惠<sup>1,2</sup>, 刘博宇<sup>1</sup>, 阮颖<sup>1,2\*</sup>, 刘春林<sup>2</sup>

(1.湖南农业大学 生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2.作物种质创新和资源利用国家重点实验室培育基地, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 对拟南芥 *SDG26* 基因功能缺失突变体 *sdg26* 植株和对照野生型 Col 植株在干旱条件下的 SOD 活性和 MDA、可溶性糖、脯氨酸含量进行测定。结果显示:随着干旱时间(5、8、11、14、17、20 d)持续, *sdg26* 植株中的 SOD 活性和 MDA、可溶性糖、脯氨酸含量都表现出明显提高的趋势, 上升水平显著高于对照野生型 Col 植株; 在持续干旱 20 d 条件下, Col 植株的叶片逐渐失水干枯及至死亡, 但 *sdg26* 植株能正常生长, 表现出良好的生长势, 推测 *SDG26* 基因功能的丧失可以增强拟南芥的抗旱能力, 说明植物的抗旱能力与组蛋白的甲基化修饰密切相关。

**关键词:** 拟南芥; *sdg26*; 干旱胁迫; 生理生化指标

中图分类号: Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)04-0377-04

## Physiological and biochemical studies on *Arabidopsis* mutant with the loss of *SDG26* gene function under drought stress

MA Hui<sup>1,2</sup>, LIU Bo-yu<sup>1</sup>, RUAN Ying<sup>1,2\*</sup>, LIU Chun-lin<sup>2</sup>

(1.College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Pre-State Key Laboratory for Germplasm Innovation and Resource Utilization of Crop, Changsha 410128, China)

**Abstract:** SOD, MDA and the content of soluble sugar and proline in *Arabidopsis* mutant plant *sdg26* and wild-type plant Col under drought condition were investigated. The results showed that SOD, MDA, the content of soluble sugar and proline increased with increasing period of drought stress (5, 8, 11, 14, 17, 20 d), the increases were significantly greater in mutant plant *sdg26* than those in wild type plant Col. In addition, water in leaves of wild-type plant Col gradually evaporated until death but mutant plant *sdg26* still grew well after 20 days of drought stress. These results suggested that mutant plant *sdg26* enhanced drought tolerance because of the loss of *SDG26* gene function, which also indicated that histone methylation played an important role in drought stress tolerance in plants.

**Key words:** *Arabidopsis thaliana*; *sdg26*; drought stress; physiological and biochemical indexes

植物的发育周期和抗逆性密切相关<sup>[1]</sup>。植物在生长周期延长的同时, 其抗逆性也有明显的提高, 如在拟南芥中发现的 *CSI88*、*gigantea (gi-3)* 等突变体表现出晚花现象, 同时也具有较强的抗氧化胁迫能力<sup>[2]</sup>。植物表观遗传修饰(特别是甲基化修饰)与

植物的抗逆性密切相关, Tsuji等<sup>[3]</sup>研究水稻对水分环境改变与组蛋白修饰之间的关系时发现, 其胁迫应答相关基因会产生动态的、可逆的 H3 组蛋白 Lys4 残基甲基化和 H3 组蛋白乙酰化。*SDG26* (set domain group26) 是组蛋白甲基转移酶的同系物, 参

收稿日期: 2012-03-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071129)

作者简介: 马惠(1986—), 女, 湖南常德人, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究, supersay123@sina.com; \*通信作者, yingruan@hotmail.com

与组蛋白的甲基化修饰;*sdg26*则是SDG26基因功能缺失的晚花突变体,且SDG26基因编码的蛋白具有组蛋白甲基转移酶活性, Lin Xu等<sup>[4]</sup>的研究表明,SDG26基因与H3Lys36处发生的甲基化有很大关系。SDG26与SDG8具有高度同源性。有研究<sup>[5]</sup>显示,SDG8基因的功能缺失降低了拟南芥的抗性。

笔者观察发现,*sdg26*植株除了具有明显的晚花现象和生长周期延长外,在表型上也有较大的变化。与野生型拟南芥相比,表现出莲座叶数量增多,叶片肥大,植株茎秆粗壮且分枝繁茂等特征。笔者继续研究在干旱胁迫下,*sdg26*植株的SOD活性和MDA、可溶性糖、脯氨酸含量等的变化,以探求组蛋白甲基化修饰和植物抗旱能力的相关性。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

拟南芥哥伦比亚野生型 Col 和 *sdg26* 种子由湖南农业大学植物发育与表观遗传调控实验室提供。

### 1.2 方法

将拟南芥种子消毒后,播种于盛有蛭石的生长钵中,置于4℃冰箱中春化,2d后在生长培养室中培养(温度22~24℃,相对湿度为60%~70%,16h光照,8h黑暗)。在苗期和营养生长前中期,保持充足的水分和营养供应。待植株长至10~11片莲座叶(未抽薹)时,挑选长势一致的野生型和*sdg26*植株,分为2组:对照组正常供水,处理组则停止浇水。从停止供水后的第5天开始,每隔3d采集对照和处理的莲座叶样品,测定叶片含水量、植株超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)、游离脯氨酸、可溶性糖含量<sup>[6]</sup>。停止供水20d后,对处理组恢复浇水,进行正常水分管理。重复3次。

试验数据使用 Excel 2003 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫下 *sdg26* 植株叶片含水量的变化

图1显示,在干旱条件下,*sdg26*和Col植株

叶片的含水量都随胁迫时间的延长而逐渐降低,在干旱胁迫前期变化不明显,到第11天以后呈较明显的下降趋势,但*sdg26*的下降趋势较缓。这说明干旱胁迫下*sdg26*植株的水分散失速率低,保水功能好于Col。

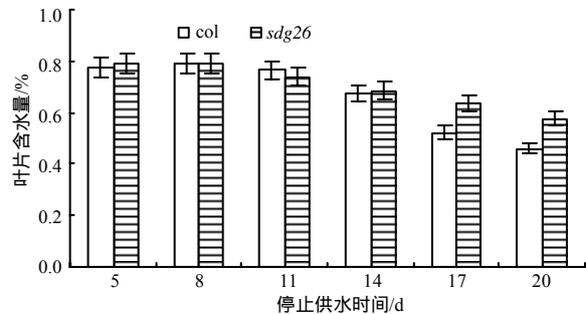


图1 干旱胁迫下 Col 和 *sdg26* 的含水量

Fig. 1 Water content of Col and *sdg26* mutant plants in drought stress

### 2.2 干旱胁迫对 *sdg26* 植株超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

从图2可以看出,随着干旱胁迫时间的延长,拟南芥SOD活性呈上升趋势。*sdg26*植株的SOD活性均高于Col。前期的干旱胁迫轻微降低了*sdg26*植株的SOD活性,对植株造成轻微伤害,但中、后期SOD值持续升高,增强了植株的抗旱能力。

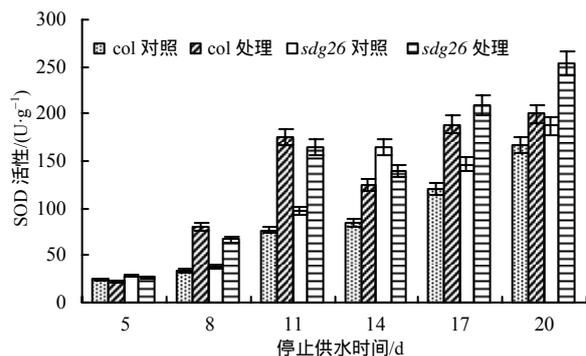


图2 干旱胁迫下 Col 和 *sdg26* 的 SOD 活性

Fig.2 SOD activity of Col and *sdg26* plants in drought conditions

### 2.3 干旱胁迫对 *sdg26* 植株 MDA 含量的影响

由图3得知,对照组MDA含量呈现先降低后上升的变化趋势,Col与*sdg26*植株中的MDA含量在干旱开始时持续下降,直到第11天同时降低

达到最低值,此后迅速增加,期间 *sdg26* 的增加量大于 Col。随干旱胁迫时间的延长,处理组 MDA 含量一直都处于比较稳定的增长状态,而且均超过对照组。

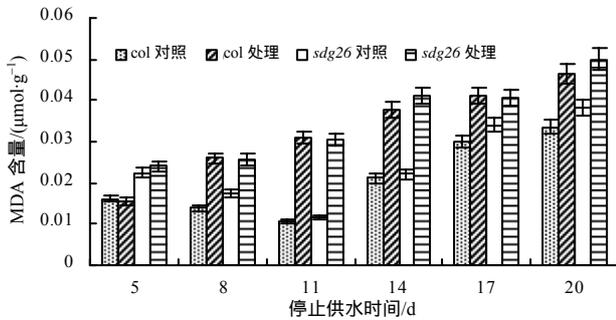


图 3 干旱胁迫下 Col 和 *sdg26* 的 MDA 含量

Fig.3 MDA content of Col and *sdg26* plant in drought stress

#### 2.4 干旱胁迫对 *sdg26* 植株游离脯氨酸含量的影响

从图 4 中看出,受到干旱胁迫后,Col 和 *sdg26* 植株中游离脯氨酸的含量都明显增加,在第 14 天时 *sdg26* 植株中游离脯氨酸的含量迅速提高,以后超过 Col,平缓增长。*sdg26* 植株的脯氨酸累积速度远大于 Col,由此说明突变体植株更能较大幅度保护细胞膜,减轻胁迫的影响。

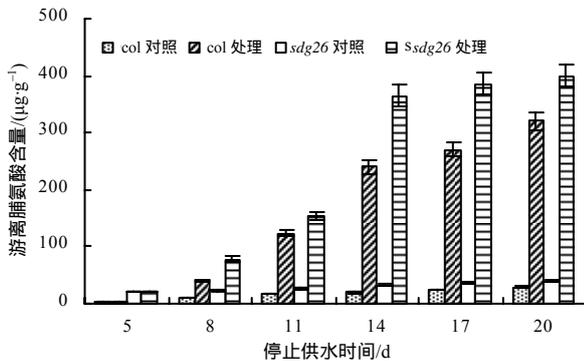


图 4 干旱胁迫下 Col 和 *sdg26* 的游离脯氨酸含量

Fig.4 Proline content of Col and *sdg26* plants in drought stress

#### 2.5 干旱胁迫对 *sdg26* 植株可溶性糖含量的影响

由图 5 可知,与对照组相比,受干旱胁迫的处理组的可溶性糖含量呈显著上升趋势。在处理组中,Col 在胁迫前期与对照差异不大,往后开始上升。而 *sdg26* 可溶性糖含量在胁迫前期时超过 Col

明显升高,再往后一直逐渐增加。由于植物对干旱胁迫的应答,植株体内的可溶性糖含量通常会增加,说明 *sdg26* 植株在感受到环境的变化时能产生积极应答,迅速积累可溶性糖,提高对干旱胁迫的耐受性。

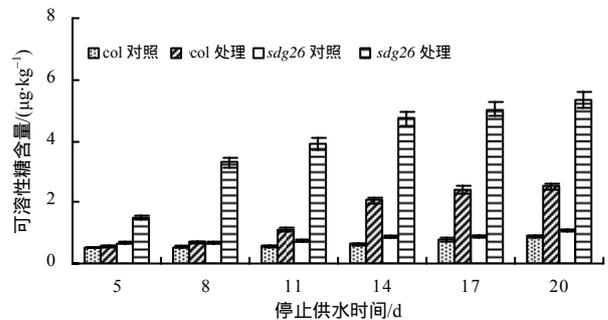


图 5 干旱胁迫下 Col 和 *sdg26* 的可溶性糖含量

Fig.5 Soluble sugar content of Col and *sdg26* plant in drought stress

#### 2.6 干旱胁迫对 *sdg26* 植株形态的影响

当干旱胁迫持续 20 d 后, *sdg26* 植株的莲座叶叶片仍然保持鲜绿,表现出良好的生长势,能正常生长。而野生型 Col 叶片由于严重失水,已经出现了萎蔫干枯,说明 *sdg26* 植株的保水能力较强,比 Col 具有更强的抗旱能力。

### 3 讨论

植物能够在一定程度上抵御干旱胁迫的影响,主要表现在膜系统保护酶、渗透物质和激素等的变化上<sup>[7-10]</sup>,当干旱胁迫至第 14 天时, *sdg26* 植株 SOD 活性明显高于 Col,说明随着干旱程度的加剧, *sdg26* 植株能大幅度增加 SOD 活性来降低伤害,也说明 *sdg26* 植株抗旱性较强。

当干旱胁迫到第 14 天时, *sdg26* 植株中的游离脯氨酸值开始明显比 Col 高,而可溶性糖在第 11 天比对照高,整体呈上升趋势,这说明在干旱环境条件下, *sdg26* 植株中明显增加的渗透物质脯氨酸和可溶性糖含量提高了植株的抗旱能力。

对照组的 MDA 值在第 11 天达到最低值,处理组的含量相对较高,表明在干旱胁迫条件下膜系统确实受到伤害,但是在第 17 天时 *sdg26* 植株 MDA

含量又有所下降,这与同期的SOD活性增强有关,植物在受到一定程度的干旱胁迫后,会通过一定的调节机制缓解胁迫所带来的伤害,使膜脂过氧化相对得到抑制,MDA含量降低,植株表现出比较强的抗旱性。

综合分析, *sdg26* 植株在持续20 d的干旱胁迫下,并未受到严重损伤,表明 *sdg26* 植株在丧失了 *SDG26* 基因的情况下具有了较强的抗干旱胁迫能力,进一步推测:虽然 *SDG26* 基因功能丧失导致晚花,但是这种突变能提高植物的抗旱能力,即植物的抗旱能力与组蛋白的甲基化修饰有密切关系。

#### 参考文献:

- [1] 旺本勤.拟南芥晚花突变体CS188的耐逆性研究[J].安徽科技学院学报,2007,21(3):7-10.
- [2] Kurepa J, Smalle J, Va M, et al. Oxidative stress tolerance and longevity in *Arabidopsis*: The late flowering mutant *gigantea* is tolerance to paraquat[J]. *The Plant Journal*, 1998, 14: 759-764.
- [3] Tsuji H, Saika H, Tsutsumi N, et al. Dynamic and reversible changes in histone H3-Lys4 methylation and H3 acetylation occurring at submergence-inducible genes in rice[J]. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47: 995-1003.
- [4] Lin Xu, Zhong Zhao, Aiwu Dong, et al. Di- and Tri- but not monomethylation on Histone H3 Lysine36 marks active transcription of genes involved in flowering time regulation and other processes in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2008, 28(4): 1348-1360.
- [5] Alexandre Berr, Emily J, Abdelmalek Alioua, et al. *Arabidopsis* Histone Methyltransferase SET DOMAIN GROUP8 mediates induction of the Jasmonate/Ethylene pathway genes in plant defense response to *Necrotrophic fungi*[J]. *Plant Physiology*, 2010, 154(3): 1403-1414.
- [6] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006.
- [7] 张永恩,李潮海,王群.植物抗旱相关功能基因研究进展[J].中国农学通报,2004,20(6):85-88.
- [8] Mckersic B D, Bowley S R, Harjanto E, et al. Water deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase[J]. *Plant Physiology*, 1996, 111(4): 1177-1181.
- [9] 李玲,余光辉.水分胁迫下植物脯氨酸累积的分子机理[J].华南师范大学学报:自然科学版,2003(1):126-134.
- [10] 康雯,刘晓东,何淼.失水胁迫对五叶地锦生理生化指标的影响[J].东北林业大学学报,2009,37(6):13-15.

责任编辑: 罗慧敏