

外源 ABA 对小麦叶片中 ABA 含量的影响

田士林 李莉 (黄淮学院农林科学系, 河南驻马店 463000)

摘要 对晋麦47 进行外源 ABA 的处理, 用酶联免疫固相抗原吸附法测定 ABA 的含量, 研究了外源 ABA 对内源 ABA 含量的影响。结果表明, 经过外源 ABA 处理的小麦较未处理的小麦叶片内的 ABA 含量明显增加。在同样环境下未处理的对照组叶片 ABA 含量为 0.301 $\mu\text{g/g}$; 经过处理的小麦叶片 ABA 含量为 3.46 $\mu\text{g/g}$, 内源 ABA 含量增加了 3.16 $\mu\text{g/g}$, 说明增加外源 ABA 可以大幅度提高小麦内源 ABA 的含量。

关键词 外源 ABA; ELISA; 抗逆性

中图分类号 Q945.78 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-02876-01

Effect of Exogenous ABA on ABA Content in Leaf of Wheat

TIAN Shi-lin et al (Department of A & F Science, Huanghui College, Zhunaduan, Henan 463000)

Abstract In pot test, Jinnai 47 was treated by exogenous ABA and the ABA content was determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for studying the effect of exogenous ABA on endogenous ABA content. The endogenous ABA content in leaf of wheat treated by exogenous ABA was obviously higher than that in untreated wheat. Under same growth conditions the endogenous ABA content in leaf of treated wheat was 3.46 $\mu\text{g/g}$ and that in untreated wheat was 0.301 $\mu\text{g/g}$, increasing by 3.16 $\mu\text{g/g}$, showing that increasing exogenous ABA can greatly raise the endogenous ABA content in wheat.

Key words Exogenous ABA; ELISA; Resistance

在引进或推广品种时, 必须考虑该品种的适应性。干旱、寒冷、高温、盐渍和水涝等逆境都会使植物体内 ABA 含量迅速增加^[1-2]。通过外源 ABA 来提高植物抗性的报道不少^[3-5], 但大部分都是对水稻的研究。因此, 通过增加外源 ABA, 观察内源 ABA 含量的变化, 进而提高晋麦47 抗逆性, 从而为引进和推广品种提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料 供试小麦品种为晋麦47。

1.2 处理 将小麦籽粒表面消毒、浸种和催芽, 然后种植于塑料盆中, 用 Hoagland 培养法进行水培, 培养室温度为 25℃, 每天光照 14 h。当小麦长出第 3 片叶片时用 ABA 处理根部, 外源 ABA 浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 。ABA 纯品由美国 Sigma 公司生产。各处理重复 3 次, 以正常叶片为对照。处理后每天光照 8 h, 连续生长 7 d 后选取第 2、3 片叶片及完整的根系, 液氮速冻后于 -20℃ 冰箱中保存。

1.3 酶联免疫吸附检测技术

1.3.1 标准样的配制。取 7 支 2 ml 具塞试管编号, 按照 2 倍稀释法用 DB 缓冲液将 ABA 原液分别稀释成浓度为 31.25、62.5、125、250、500、1 000、2 000 ng/ml 的标准工作溶液。

1.3.2 样品的提取。用 1/1 000 天平精确称取 1 g 样品, 将材料剪成小段, 置冰冻研钵中研磨, 加少许石英砂, 再加 2~3 ml 80% 甲醇(冷冻加抗氧化剂), 快速研磨, 将甲醇加至 5 ml, 转入离心管(埋入冰中), 然后放入离心机中(4℃、10 000 r/min)离心 10 min。最后, 通过 C₁₈ 柱纯化。

1.3.3 包被。先将抗原蛋白复合物(ABA-BSA)包被在微孔板表面, 使之固相化并形成吸附抗原, 然后加入 ABA 的专一性抗体(第一抗体)、标准 ABA 和待测样品(抗原), 使样品中的 ABA、吸附抗原与第一抗体结合。当反应体系中 ABA 含量较高时, 第一抗体与吸附抗原结合就少, 反之则多。然后, 通过酶标激素(第二抗体)来检测第一抗体与吸附抗原的结合量, 间接地计算待测样中 ABA 含量。各孔加入 100 μl 包被

液, 37℃ 温育 6 h, 用 WB 洗涤 3 次甩干, 加标样、待测液 50 μl , 然后加第一抗体 50 μl , 37℃ 温育 30 min, 用 WB 洗涤 3 次甩干, 每孔加入酶标第二抗体 100 μl , 37℃ 温育 30 min, 用 WB 洗涤 3 次甩干, 每孔加入 100 μl OPD 溶液, 37℃ 20 min, 显色, 每孔加入 50 μl 2 mol/L H₂SO₄ 终止反应, 490 nm 波长下测定吸光度。在反应过程中, 第一抗体与激素结合物存在于溶液中, 而吸附抗原与第一抗体结合物则与微孔板表面结合在一起。当洗板甩干后, 用酶标二抗检测到的就是只有吸附抗原与第一抗体反应后的结合物。通过空白试验, 即可以计算出 ABA 含量。

2 结果与分析

以空白孔的吸光值调零, A~G 行 1~3 列各孔的吸光值平均为 B_i (i 为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 号标准孔的吸光值), 同一待测样品重复孔的吸光值平均为 B_j (j 代表不同的样品)。以标准的 ABA 含量的常用对数 lg[ABA] 为横坐标, 对应的 ln[B_j/(B₀-B_i)] 为纵坐标, 可以得到一条 y = a + bx 的直线(图 1)。

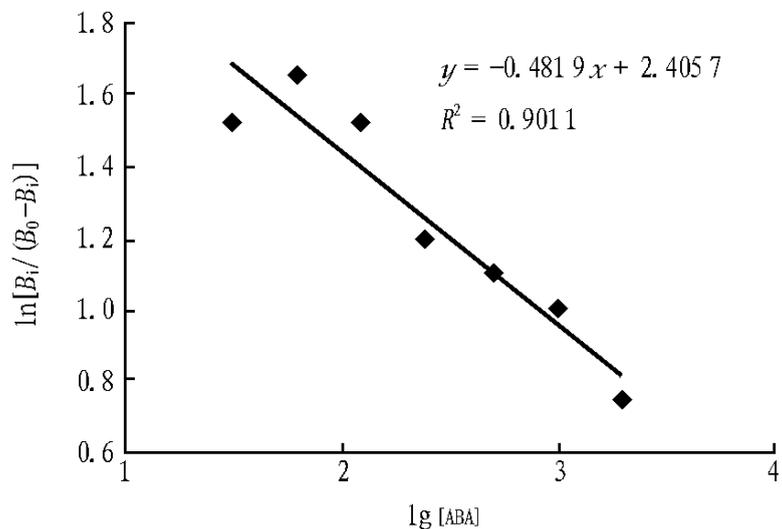


图1 ABA-ELISA 标准曲线

将 B_j 经 ln[B_j/(B₀-B_j)] 换算成 y_j, 然后代入直线 y = a + bx, 得 x_j。对 x_j 取反对数, 即可知 s_j 样品孔 ABA 浓度。通过下式, 可计算每克鲜重的 ABA 含量。

$$\text{ABA 含量} = (C_s \times V_t \times V_1 / V_2 \times 1/50) / FW \quad (1)$$

式中, C_s 为样品孔 ABA 浓度 ng/ml; V_t 为提取液总体积 (μl);

(下转第 2878 页)

作者简介 田士林(1973-), 男, 河南西平人, 硕士, 讲师, 从事园艺及植物生理方面的教学与研究工作。

收稿日期 2007-01-01

(上接第2876页)

V_1 为从滤液中取出吹干的体积(μ) ; V_2 为向微孔板中加样的体积(μ) ; FW 为样品的鲜重(g)。

研究表明,对照组在同样环境下的叶片 ABA 含量为 $0.31 \mu\text{g/g}$, 经过处理的小麦叶片 ABA 含量为 $3.46 \mu\text{g/g}$ 。可以看出,经过外源 ABA 处理的小麦叶片 ABA 含量明显增加,内源 ABA 含量增加了 $3.16 \mu\text{g/g}$ 。

3 结论与讨论

研究表明,当施用外源 ABA 时,小麦叶片中 ABA 含量急剧增加,而且增加的幅度很大,说明增加外源 ABA 可以

大幅度提高小麦内源 ABA 含量。通过外源 ABA 处理,晋麦 47 ABA 含量增加近 11 倍。由此可见,外源 ABA 可以刺激叶片中内源 ABA 含量的增加,从而提高晋麦 47 的适应性。

参考文献

- [1] 孙梅霞, 祖朝龙, 徐经年. 干旱对植物影响的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2004(2) :169 - 171, 188.
- [2] 李智念, 王光明, 曾之文. 植物干旱胁迫中的 ABA 研究[J]. 干旱地区农业研究, 2003(2) :103 - 108.
- [3] 王成章, 潘晓建, 张春梅, 等. 外源 ABA 对不同休眠型苜蓿品种植物激素含量的影响[J]. 草业学报, 2006(2) :32 - 38.
- [4] 雍太文, 杨文钰, 王小春. 利用外源 ABA 控制杂交水稻穗萌的研究[J]. 中国农学通报, 2003(1) :24 - 26, 32.
- [5] 易泽林. 外源 ABA 对稻米蒸煮品质的影响分析[J]. 种子, 2006(3) :75 - 76.