

干旱胁迫下小麦叶片脱水素的表达与水分的关系

于 茜,张林生

(西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】研究脱水素对小麦抗旱的作用,阐明脱水素表达与水分的关系。【方法】以 2 个耐旱性不同的同核异质小麦品系(高抗和低抗)为材料,在盆栽自然干旱胁迫和复水条件下处理小麦幼苗,采用 SDS-PAGE 和 Western blot 方法,分析小麦在干旱和复水条件下叶片的相对含水量、细胞膜相对透性和脱水素表达量的变化。【结果】随土壤干旱胁迫程度的加剧,小麦叶片相对含水量下降,细胞膜相对透性增大,有 1 条 28 ku 脱水素特异表达;耐旱性弱的小麦品系叶片中脱水素的表达早于耐旱性强的小麦品系,说明其对于干旱胁迫更敏感;而耐旱性强的小麦品系叶片中脱水素蛋白含量高于耐旱性弱的小麦品系;复水后,小麦叶片相对含水量上升,细胞膜相对透性减小,脱水素蛋白在一小段时间内仍存在,说明其表达有一定的延续性。【结论】小麦耐旱性与其受干旱影响的程度和脱水素的表达密切相关。

【关键词】 干旱胁迫;复水;小麦叶片;脱水素

【中图分类号】 S512.1⁺10.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)02-0069-07

The expression of dehydrin in wheat leaves under drought stress and its relationship with water

YU Qian,ZHANG Lin-sheng

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The function of dehydrin to drought tolerance, and the relationship between the expression of dehydrin and drought were studied. 【Method】 Two different drought resistant and isonuclear alloplasmic wheats(with strong tolerance and weak tolerance)were pot cultured under drought stress and rehydration. We analyzed the relationship between water content,membrane permeability and the expression of dehydrin in wheat leaves in the process of natural drought stress and rehydration. 【Result】 Under drought stress,the water content of wheat leaves decreased,but membrane permeability increased. Western blot analysis showed that,there was a specific protein of 28 ku under drought stress,the expression of dehydrin in weak drought tolerant wheat leaf was earlier than that in strong drought tolerant wheat leaf,and the content of dehydrin in strong drought tolerant wheat was higher than that in weak drought tolerant wheat. After rehydration,the water content of wheat leaves increased,the membrane permeability decreased,and this dehydrin could exist in plant for some time. 【Conclusion】 It shows that the harm to wheat under drought stress and the expression of this dehydrin are closely related to drought resistance of wheat.

Key words: drought stress;rehydration;wheat leaf;dehydrin

干旱是影响小麦等作物生长和产量的重要环境因素之一^[1]。在干旱胁迫下,植物会通过一系列生

理生化反应来调节内部的代谢,以适应和抵御干旱的影响,使自身免受或减轻伤害,维持正常的生命活

* [收稿日期] 2009-06-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30671253)

[作者简介] 于 茜(1983—),女,陕西西安人,在读硕士,主要从事植物抗逆分子机理研究。E-mail:yqyqqq@yahoo.com.cn

[通信作者] 张林生(1958—),男,陕西杨凌人,教授,博士,博士生导师,主要从事植物抗逆分子机理研究。

E-mail:linszhang@yahoo.com.cn

动。植物组织在受到不利环境条件危害时,细胞膜的功能首先受到伤害,细胞膜透性增大。

植物在生长过程中,干旱胁迫能诱导许多基因表达,以减轻由于干旱所造成的损伤,植物的这种耐旱机制是体内一系列调控因子改变引起的分子效应,胚胎发育后期丰富蛋白(Late Embryogenesis Abundant proteins, LEA 蛋白)中的脱水素可能就是这些重要分子之一^[2-3]。脱水素(Dehydrin)属于 LEA-II 家族,分子质量为 9~200 ku,是一种广泛存在于高等植物中的干旱诱导蛋白,在植物胚胎发生晚期产生。受低温、外源 ABA、干旱、盐以及胞外结晶等脱水胁迫的影响,植株也会积累这类蛋白^[4-6]。脱水素分子具有很高的亲水性^[7]和热稳定性^[8],能将水分捕获到细胞内,以保护细胞免受干旱的损伤^[9-10]。宋松泉等^[11]认为,脱水素还能与可溶性糖协同作用,抑制胞质晶体化并维持膜表面的液化状态,保持细胞液处于溶解状态,避免细胞结构塌陷,稳定细胞结构,尤其是膜结构。

关于干旱对小麦影响的研究,前人多采用水培方式培养并进行控水处理,且多集中在短时胁迫对小麦生理特性及其分子机制的单一因素方面,而对小麦在盆栽自然干旱和复水后脱水素的表达与水分的关系研究较少。本试验在盆栽自然干旱胁迫和复水条件下,研究了 2 个耐旱性不同的同核异质小麦品系(高抗和低抗)小麦叶片相对含水量、细胞膜相对透性及脱水素的表达规律,旨在阐明脱水素表达与水分的关系,以期为进一步研究该蛋白的功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦为同核异质耐旱性小麦,品系为高抗 86211(耐旱性强)和低抗 7532(耐旱性弱)冬小麦(由美国华盛顿国立大学植物系提供)。供试土壤采自西北农林科技大学农作一站大田耕层,属黄土母质发育的塬土。

1.2 方法

1.2.1 小麦培育与处理 (1)小麦幼苗栽培。用直径 20 cm 的塑胶盆进行盆栽试验,将大田耕层 10~20 cm 土壤与蚯蚓粪混合(体积比 2:1),风干过筛,土壤最大毛管持水量为 26.18%。每盆装土 4.5 kg,于 2008-10 在玻璃温室内种植 2 个小麦品系,试验期间土壤含水量一直保持在最大毛管持水量的 70%~75%(后文将“最大毛管持水量的 $x\%$ ”简称

为“持水量的 $x\%$ ”)。

(2)小麦幼苗处理。试验设对照组(CK)和胁迫组。2008-12 将小麦幼苗移入室内(15℃),分蘖前对胁迫组进行自然干旱处理,使土壤含水量从持水量的 70%下降到 20%,历时 15 d;然后进行复水处理,使土壤含水量恢复到持水量的 70%。复水后对对照组土壤含水量一直保持在持水量的 70%~75%。采用称重法控制水分。胁迫组分别在土壤含水量为持水量的 70%(S₀),60%(S₁),50%(S₂),40%(S₃),30%(S₄),20%(S₅)和复水后 24 h(R₁),48 h(R₂),72 h(R₃)时采摘 2 个品系的小麦叶片,对照组在胁迫组最后一次采样时采摘 2 个品系的小麦叶片,用于分析。

1.2.2 可溶性蛋白质提取 称取一定量小麦叶片(根据称样量计算加入蛋白质提取液的体积,使电泳图片的条带有粗略的可比性),加入液氮,用研钵磨成粉,转入 5 mL 离心管中,加蛋白质提取液 5 μ L/mg (15 mmol Tris-Cl, pH 6.8;体积分数 1% 2-巯基乙醇;1 mmol PMSF),涡旋 2 min,4℃、10 000 r/min 离心 15 min,取上清,于 80℃温浴 10 min;4℃、10 000 r/min 离心 15 min,弃沉淀,向上清中加体积为上清液体积 2~4 倍的丙酮,-20℃过夜沉淀;10 000 r/min 离心 5 min,弃上清,用丙酮冲洗蛋白质沉淀 3 次,最后沉淀用上样缓冲液溶解(1 mg 样品加入 0.5 μ L 上样 Buffer),并于沸水浴中煮沸 3~5 min,冷却至室温后存放于-20℃冰箱中备用^[12]。

1.2.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳^[13-14] 聚丙烯酰胺凝胶(5%的浓缩胶,12%的分离胶)电泳时,浓缩胶部分电流恒定在 15 mA,分离胶部分电流恒定在 20 mA。电泳 2~4 h,考马斯亮蓝法染色 1 h 或过夜,直至条带清晰,脱色后,Bio-Rad 成像系统成像^[15]。

1.2.4 Western blot 分析 用半干式转移槽(Jim-X)^[12-14]将凝胶中的蛋白转移到 PVDF 膜(美国 MILIPORE)上。按凝胶面积 0.65~1.0 mA/cm²接通电流,电转移 0.5~2 h。一抗为脱水素多克隆抗体(瑞典 Agrisera 公司),二抗为碱性磷酸酶(AP)标记的羊抗兔抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司),利用碱性磷酸酶显色试剂盒(BCIP/NBT,武汉博士德生物工程有限公司)进行免疫检测。

1.2.5 细胞膜相对透性和叶片相对含水量的测定 细胞膜相对透性用 DDS-1 IA 型电导率仪测定,以相对电导率(%)表示;叶片相对含水量(RWC)采用称重法测定^[16]。

细胞膜相对透性和叶片相对含水量的测定试验,

采用完全随机设计,9 种处理各重复 3 次,数据用 SPASS 15.0 软件在 $P=0.05$ 水平上进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对高抗小麦叶片脱水素表达的影响

通过干旱胁迫,对高抗小麦叶片中可溶性蛋白质组分进行 SDS-PAGE 电泳分析,结果见图 1。由

图 1 可见,随着干旱时间的延长和干旱程度的加剧,电泳蛋白条带逐渐加深,表明小分子质量可溶性蛋白质含量增加。复水后蛋白质条带颜色渐弱,说明可溶性蛋白质含量减少。由图 1 还可见,在 28 ku 处,第 2~9 泳道均有蛋白条带,第 1 和 10 泳道没有此条带,说明此蛋白的表达与水分胁迫密切相关,可能是一种干旱诱导蛋白。

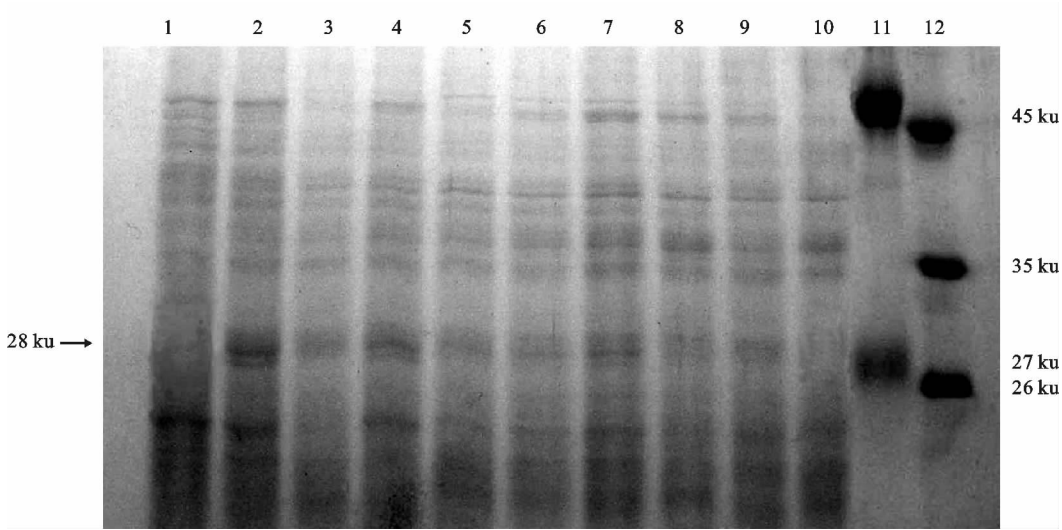


图 1 干旱胁迫和复水处理下高抗小麦叶片的 SDS-PAGE 蛋白图谱
1. S_0 ; 2. S_1 ; 3. S_2 ; 4. S_3 ; 5. S_4 ; 6. S_5 ; 7. R_1 ; 8. R_2 ; 9. R_3 ; 10. CK; 11. 预染蛋白标准; 12. 蛋白标准
Fig. 1 SDS-PAGE protein analysis of wheat leaves of strong drought tolerance under drought stress
1. S_0 ; 2. S_1 ; 3. S_2 ; 4. S_3 ; 5. S_4 ; 6. S_5 ; 7. R_1 ; 8. R_2 ; 9. R_3 ; 10. CK; 11. Prestained protein Marker; 12. Protein Marker

用脱水素抗体进行 Western blot 分析,结果(图 2)表明,在 28 ku 处出现 1 条清晰的抗脱水素条带,说明该蛋白是小麦脱水素蛋白。图 2 结果还显示,脱水素的表达量随胁迫时间的延长和胁迫程度的加

剧而增加,说明高抗小麦体内脱水素蛋白含量增加。复水后此蛋白含量有减少趋势,说明该脱水素被诱导后在小麦体内还要持续表达一段时间。

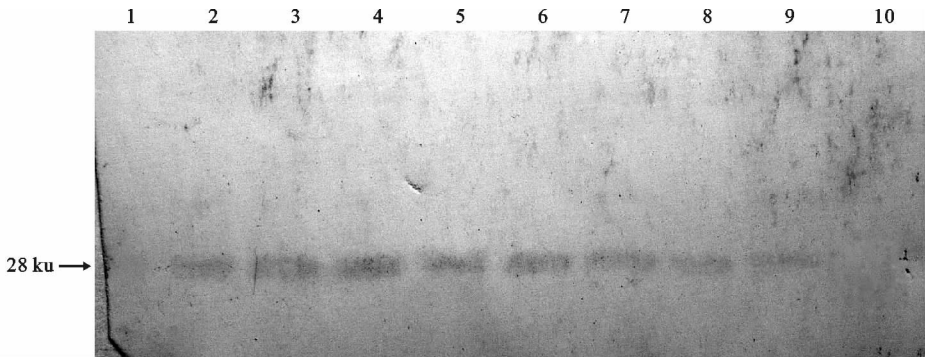


图 2 干旱胁迫和复水处理下高抗小麦叶片的 Western blot 图谱
1. S_0 ; 2. S_1 ; 3. S_2 ; 4. S_3 ; 5. S_4 ; 6. S_5 ; 7. R_1 ; 8. R_2 ; 9. R_3 ; 10. CK
Fig. 2 Western blot analysis of wheat leaves of strong drought tolerance under drought stress

2.2 干旱胁迫对低抗小麦叶片脱水素表达的影响

低抗小麦叶片中蛋白质的分析结果(图 3)表明,在第 1 和 10 泳道中未见 28 ku 蛋白表达,其他泳道在 28 ku 处均有蛋白条带出现,且随着土壤干

旱胁迫程度的加剧和胁迫时间的延长,该蛋白含量增加,而复水后又逐渐消失。以脱水素为抗体进行 Western blot 分析,结果图 4。从图 4 可以看出,在 28 ku 处出现抗脱水素条带,说明该蛋白为脱水素

蛋白。

比较图 2 和图 4 可以看出,耐旱性强的小麦品系脱水素在干旱胁迫初期表达量较少,在胁迫中后期大量表达;而耐旱性弱的小麦品系脱水素在干旱

胁迫初期就已开始大量表达,说明耐旱性弱的小麦品系叶片中脱水素的表达早于耐旱性强的小麦品系。

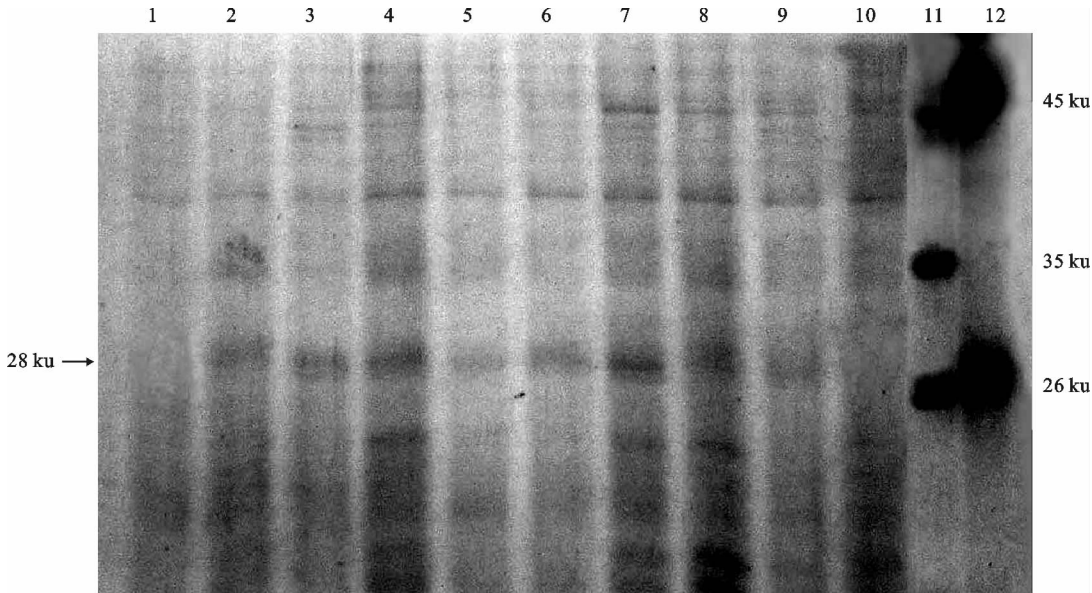


图 3 干旱胁迫和复水处理下低抗小麦叶片的 SDS-PAGE 蛋白图谱

1. S₀; 2. S₁; 3. S₂; 4. S₃; 5. S₄; 6. S₅; 7. R₁; 8. R₂; 9. R₃; 10. CK; 11. 蛋白标准; 12. 预染蛋白标准

Fig. 3 SDS-PAGE protein diagram analysis of wheat leaves of weak drought tolerance under drought stress

1. S₀; 2. S₁; 3. S₂; 4. S₃; 5. S₄; 6. S₅; 7. R₁; 8. R₂; 9. R₃; 10. CK; 11. Protein Marker; 12. Prestained protein Marker

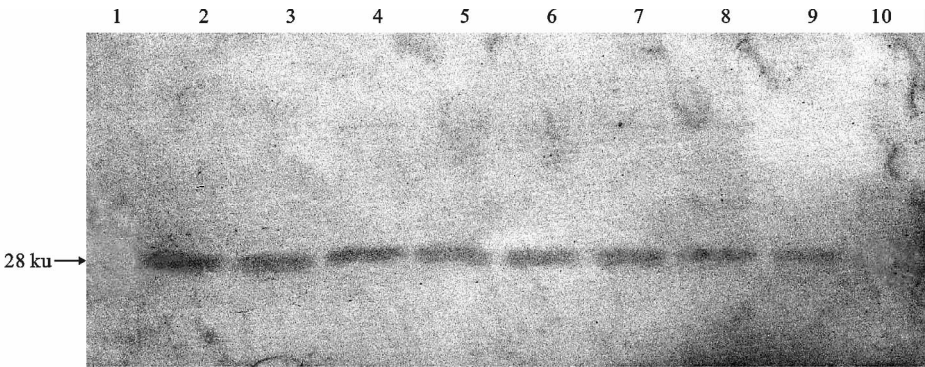


图 4 干旱胁迫和复水处理下低抗小麦叶片的 Western blot 图谱

1. S₀; 2. S₁; 3. S₂; 4. S₃; 5. S₄; 6. S₅; 7. R₁; 8. R₂; 9. R₃; 10. CK

Fig. 4 Western blot analysis of wheat leaves of weak drought tolerance under drought stress

2. 3 不同耐旱性小麦叶片脱水素表达的比较

在自然干旱胁迫和复水条件下,进一步分析不同耐旱性小麦品系脱水素表达情况的差异,结果见图 5。图 5 中杂交条带是分子质量为 28 ku 的脱水素,干旱及复水条件下,脱水素在 2 种耐旱性不同的小麦体内均有表达,而在正常供水组(持水量 70%)和对照组中均未见表达。从条带的深浅可以看出,不论在干旱胁迫还是复水过程中,高抗小麦的脱水

素表达量均高于低抗,这可能与高抗小麦具有较强的耐旱性有关。

2. 4 不同耐旱性小麦叶片相对含水量的变化

由表 1 可以看出,在正常供水(S₀)条件下,2 种小麦叶片的相对含水量无显著差异;但在水分胁迫条件下,2 个品系小麦叶片的相对含水量均呈持续下降趋势,在土壤持水量降到 20%时最低,复水后又呈持续上升趋势。在整个处理过程中,高抗小麦

叶片相对含水量变化幅度较小,且均高于低抗小麦。统计分析(表 1)表明,强耐旱性小麦仅在持水量 30%和 20%时与正常供水处理相比变化显著($P<0.05$);而弱耐旱性小麦在持水量少于 60%以后,与

正常供水处理相比均变化显著($P<0.05$)。本试验中小麦叶片相对含水量的变化幅度与品系的耐旱性一致。

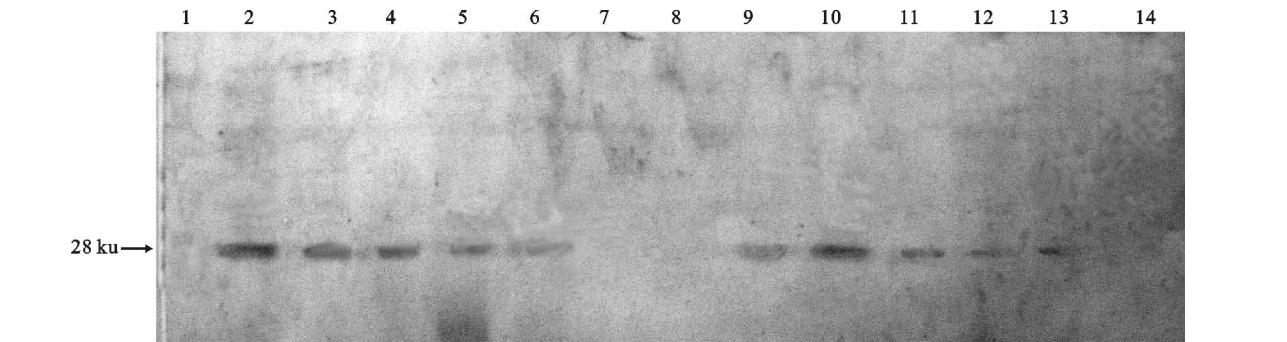


图 5 干旱胁迫和复水处理下不同耐旱性小麦叶片的 Western blot 对比图谱

1. 高抗 S₀;2. 高抗 S₁;3. 高抗 S₃;4. 高抗 S₅;5. 高抗 R₁;6. 高抗 R₃;7. 高抗对照组;8. 低抗 S₀;9. 低抗 S₁;10. 低抗 S₃;11. 低抗 S₅;12. 低抗 R₁;13. 低抗 R₃;14. 低抗对照组

Fig. 5 Western blot analysis of wheat leaves between strong drought tolerance and weak drought tolerance under drought stress

1. 70% of the holding water of strong drought tolerance;2. 60% of the holding water of strong drought tolerance;3. 40% of the holding water of strong drought tolerance;4. 20% of the holding water of strong drought tolerance;5. Rewatering for 24 h of strong drought tolerance;6. Rewatering for 72 h of strong drought tolerance;7. CK of strong drought tolerance;8. 70% of the holding water of weak drought tolerance;9. 60% of the holding water of weak drought tolerance;10. 40% of the holding water of weak drought tolerance;11. 20% of the holding water of weak drought tolerance;12. Rewatering for 24 h of weak drought tolerance;13. Rewatering for 72 h of weak drought tolerance;14. CK of weak drought tolerance

表 1 干旱胁迫和复水处理对不同耐旱性小麦叶片相对含水量及细胞膜相对透性的影响

处理 Treatment	相对含水量/% RWS		细胞膜相对透性/% Relative permeability of cell membrane	
	高抗	低抗	高抗	低抗
	Strong drought tolerance	Weak drought tolerance	Strong drought tolerance	Weak drought tolerance
S ₀	92.30±2.28	91.88±1.12	23.56±2.66	23.87±1.84
S ₁	92.01±2.35	90.94±1.63	24.90±2.91	25.99±2.43
S ₂	89.37±2.29	87.80±2.32*	26.88±5.16	33.16±2.79*
S ₃	87.28±2.37	83.44±1.52*	32.96±5.15*	35.10±1.70*
S ₄	84.59±3.15*	78.36±1.52*	35.23±4.39*	43.79±1.92*
S ₅	80.48±4.25*	70.21±1.11*	45.89±6.91*	52.70±3.68*
R ₁	89.88±1.76	78.69±1.32*	43.85±4.53*	52.31±2.98*
R ₂	91.60±3.43	84.98±1.76*	38.76±4.70*	49.82±2.49*
R ₃	92.01±1.39	89.21±1.00	32.42±5.40	43.47±3.22*

注:数据后标 * 表示与正常供水处理组(S₀)有显著差异($P<0.05$)。
Note: Data marked with * indicate significant difference from the normal water supply group(S₀).

2.5 不同耐旱性小麦叶片细胞膜相对透性的变化

干旱胁迫和复水处理对不同耐旱性小麦叶片相对含水量及细胞膜相对透性的影响见表 1。由表 1 可见,在土壤持水量为 50%以上时,高抗小麦叶片细胞膜相对透性上升较慢,与正常供水处理(S₀)无显著性差异;随着水分胁迫程度的加剧,细胞膜相对透性显著升高($P<0.05$),当土壤持水量降到 20%

时,细胞膜相对透性是 S₀ 处理的 1.95 倍;复水后,细胞膜相对透性大幅下降,但仍高于 S₀ 处理,在复水后 72 h,细胞膜相对透性是 S₀ 处理的 1.38 倍。低抗小麦叶片细胞膜相对透性在持水量为 60%以上时缓慢升高,之后急剧上升,与 S₀ 处理差异显著($P<0.05$);当土壤持水量降到 20%时,细胞膜相对透性是 S₀ 处理的 2.21 倍;复水 72 h 后,细胞膜相

对透性为 S_0 处理的 1.82 倍。

3 讨 论

干旱胁迫条件下,LEA 蛋白的优先合成和超量表达,对提高细胞保水能力和植株对水分胁迫的抗性具有积极作用,是小麦对干旱胁迫的一种适应性保护反应。在正常水分条件下,小麦体内的脱水素基因不能表达,但受干旱影响后会诱导表达许多与干旱相关的基因,脱水素即是其中之一,其可以免除或减轻干旱对细胞膜结构造成的伤害;在复水以后,脱水素逐渐消失,渐渐恢复为正常供水模式。本试验结果表明,小麦在干旱胁迫时,诱导产生 28 ku 脱水素蛋白,且强耐旱性小麦品系叶片中的脱水素蛋白含量高于弱耐旱性小麦品系,但弱耐旱性小麦品系叶片中脱水素的表达早于强耐旱性小麦品系,说明此蛋白的表达情况与小麦的耐旱性密切相关。脱水素蛋白在复水后一小段时间内仍存在,但表达量明显减少,这可能是蛋白降解的缘故,但基因何时开启、何时关闭,还需进一步研究。

植物组织受到不利环境条件危害时,细胞膜的功能首先受到伤害,表现为细胞膜相对透性增加。大量研究表明,叶片相对含水量(RWC)对土壤水分变化的反应十分敏感,RWC 高的小麦品种抗旱性强^[17],叶片持水量是一个较好的抗旱指标,且是简单遗传。随着干旱的加剧,小麦叶片相对含水量下降,细胞膜相对透性增大,复水后有所恢复。不同耐旱性小麦品系对干旱胁迫的反应不尽相同,在相同的胁迫条件下,耐旱性强的品系,叶片相对含水量大,细胞膜相对透性较小,而耐旱性弱的品系则相反。本研究结果与前人的观点相似^[18-19]。

在试验方法上,本研究采用盆栽培养小麦幼苗,并对幼苗进行长时间(15 d)自然干旱胁迫的方法,与前人采用的水培、短时胁迫的试验方法^[18-21]相比,本研究方法更接近生产实际,因此试验结果更具实用性。

4 结 论

耐旱性强的小麦品系脱水素表达量和叶片相对含水量较大,细胞膜相对透性较小,表现出较强的干旱耐受能力;耐旱性弱的小麦品系脱水素表达较早,叶片相对含水量较小,细胞膜相对透性较大,表明其对干旱胁迫更加敏感。说明小麦耐旱性与其受干旱影响的程度及脱水素的表达密切相关。

[参考文献]

- [1] Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: an overview [J]. Arch Biochem Biophys, 2005, 444: 139-158.
- [2] Ron P, Konstantinos P, Dafna R, et al. Isolation of a dehydrin cDNA from orange and grapefruit citrus fruit that is specifically induced by the combination of heat followed by chilling temperatures [J]. Physiologia Plantarum, 2004, 120(2): 256-264.
- [3] 王君丹, 胡鸾雷, 魏 晓, 等. 脱水素基因转化的矮牵牛对干旱胁迫的反应 [J]. 分子植物育种, 2004, 2(3): 369-374.
Wang J D, Hu Y L, Wei X, et al. Dehydrin gene transformed petunia showed strong resistance to drought stress [J]. Molecular Plant Breeding, 2004, 2(3): 369-374. (in Chinese)
- [4] 孙 歆, 雷 韬, 袁 澍, 等. 脱水素研究进展 [J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(3): 299-304.
Sun X, Lei T, Yuan S, et al. Progress in research of dehydrins [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2005, 23(3): 299-304. (in Chinese)
- [5] Allagulova C R, Gimalov F R, Shakirova F M, et al. The plant-dehydrins: structure and putative function [J]. Biochemistry, 2003, 68: 945-951.
- [6] 徐红霞, 陈俊伟, 谢 鸣. 脱水素在植物低温胁迫响应中的作用 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(1): 199-206.
Xu H X, Chen J W, Xie M. The role of dehydrin in plant response to cold stress [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2009, 29(1): 199-206. (in Chinese)
- [7] 李跃强, 宣维健, 盛承发. 植物的低温蛋白 [J]. 生态学报, 2004, 24(5): 1034-1039.
Li Y Q, Xuan W J, Sheng C F. The cold induced proteins in plants [J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(5): 1034-1039. (in Chinese)
- [8] Zhang Y X, Wang Z, Xu J. Molecular mechanism of dehydrin in response to environmental stress in plant [J]. Progerssin Natural Science, 2007, 17(3): 237-246.
- [9] Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants [J]. Annu Rev Plant Physiol Mol Biol, 1996, 47: 377-403.
- [10] Meurs C, Basra A S, Karssen C M, et al. Role of abscisic acid in the induction of desiccation tolerance in developing seeds of arabidopsis thaliana [J]. Plant Physiol, 1992, 98: 1484-1493.
- [11] 宋松泉, 网彦荣. 植物对干旱胁迫的分子反应 [J]. 应用生态学报, 2002, 13(8): 1037-1044.
Song S Q, Wang Y R. Molecular response of plant to drought stress [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(8): 1037-1044. (in Chinese)
- [12] 胡哲森, 许长钦, 傅瑞树. 锥栗幼苗对水分胁迫的生理响应及 6-BA 的作用 [J]. 福建林学院学报, 2000, 20(3): 199-202.
Hu Z S, Xu C Q, Fu R S. Physiological response for castanea henryi seedling under water stress and the action of 6-BA [J]. Journal of Fujian College of Forestry, 2000, 20(3): 199-202. (in Chinese)
- [13] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1992: 123-156.

- Guo Y J. Methods of Gel electrophoresis [M]. Beijing: Science Press, 1992: 123-156. (in Chinese)
- [14] 奥斯伯 F, 金斯頓 R E, 塞德曼 J C, 等. 精编分子生物学实验指南 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2001: 329-373.
- Ausubel F, Kingston R E, Seidman J C, et al. Short protocols in molecular biology [M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2001: 329-373. (in Chinese)
- [15] 龚月桦, 高俊凤. 干旱胁迫下植物质膜功能蛋白研究现状 [J]. 西北植物学报, 2002, 22(3): 682-692.
- Gong Y H, Gao J F. Recent approach of functional proteins in plant PM under drought stress [J]. Acta Bot Boreal-occident Sin, 2002, 22(3): 682-692. (in Chinese)
- [16] 高俊凤. 植物生理学试验技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 15-16, 208-210.
- Gao J F. The plant physiology experiment technology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 15-16, 208-210. (in Chinese)
- [17] Schonfeld M A, Johnson R C, Carver B F, et al. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators [J]. Crop Science, 1988, 28(3): 526-531.
- [18] 邵俊红, 梁宗锁, 赵荣艳, 等. 水分胁迫对不同小麦品种幼苗生理特性的影响 [J]. 中国农学通报, 2008, 24(10): 141-145.
- Gao J H, Liang Z S, Zhao R Y, et al. Effects of water stress on the physiological characters of seedlings of different wheat varieties [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(10): 141-145. (in Chinese)
- [19] 吴强, 冯汉青, 李红玉, 等. 干旱胁迫对小麦幼苗抗氰呼吸和活性氧代谢的影响 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(2): 217-224.
- Wu Q, Feng H Q, Li H Y, et al. Effects of drought stress on cyanide-resistant respiration and metabolism of reactive oxygen in wheat seedling [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2006, 32(2): 217-224. (in Chinese)
- [20] 李妮亚, 高俊凤. 水分胁迫对抗旱性不同的冬小麦幼芽蛋白质的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 1997, 15(1): 85-90.
- Li N Y, Gao J F. Effects of water stress on protein in shoots of drought-tolerant and drought-sensitive cultivars of winter wheat [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 1997, 15(1): 85-90. (in Chinese)
- [21] Wahid A, Close T J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves [J]. Biologia Plantarum, 2007, 51(1): 104-109.
-
- (上接第 68 页)
- [20] Iqbal N, Röder M S, Caligari P D S, et al. Characterization of *Aegilops uniaristata* chromosomes by comparative DNA marker analysis and repetitive DNA sequence in situ hybridization [J]. Theor Appl Genet, 2000, 101(8): 1173-1179.
- [21] 翁东旭, 徐世昌, 蔺瑞明, 等. 小麦条锈菌鉴别寄主抗条锈病基因 Yr9 的微卫星标记 [J]. 遗传学报, 2005, 32(9): 937-941.
- Wong D X, Xu S C, Lin R M, et al. Microsatellite marker linked with stripe rust resistant gene Yr9 in wheat [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2005, 32(9): 937-941. (in Chinese)
- [22] 吴立人, 牛永春. 对我国小麦条锈病持续控制的思考 [J]. 中国农业科学, 2000, 33(5): 1-7.
- Wu L R, Niu Y C. Strategies of sustainable control of wheat stripe rust in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33(5): 1-7. (in Chinese)
- [23] 李强, 王保通, 王芳, 等. 新育成小麦品种(系)抗条锈性鉴定分析 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(增刊): 14-16.
- Li Q, Wang B T, Wang F, et al. Identification and analysis on resistance to stripe rust of new breeding wheat varieties in 2004 [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2005, 33(Suppl.): 14-16. (in Chinese)
- [24] Kema G H J, Lange W. Resistance in spelt wheat to yellow rust II. monosomic analysis of the Iranian accession 415 [J]. Euphytica, 1992, 63: 219-224.
- [25] William M, Singh R P, Huerta-Espino J, et al. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat [J]. Phytopathology, 2003, 93: 153-159.
- [26] Lin F, Chen X M. Genetics and molecular mapping of genes for race-specific and all-stage resistance and non-specific high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in spring wheat cultivar Alpowa [J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 1277-1287.
- [27] 蒲宗君, 颜泽洪, 魏育明, 等. 小麦材料 PI31 抗条锈性鉴定及其抗性基因 SSR 标记 [J]. 植物病理学报, 2006, 36(4): 342-346.
- Pu Z J, Yan Z H, Wei Y M, et al. Identification and SSR mapping of a stripe rust resistance gene in wheat line PI31 [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2006, 36(4): 342-346. (in Chinese)
- [28] Ma J X, Zhou R H, Dong Y C, et al. Molecular mapping and detection of the yellow rust resistance gene *Yr26* in wheat transferred from *Triticum turgidum* L. using microsatellite markers [J]. Euphytica, 2001, 120(2): 219-226.
- [29] Peng J H, Fahima T, Röder M S, et al. High-density molecular map of chromosome region harbouring stripe-rust resistance genes *YrH52* and *Yr15* derived from wild emmer wheat [J]. Genetica, 2000, 109: 199-210.
- [30] 张学勇, 陈淑阳, 李振声. 普通小麦异代换系的产生和利用 [J]. 遗传, 1990, 12(4): 40-44.
- Zhang X Y, Chen S Y, Li Z S. Production and utilization of alien substitution lines of common wheat [J]. Hereditas, 1990, 12(4): 40-44. (in Chinese)