第1卷 第1期
1995年3月
植物营养与肥料学报
PLANT NUTRITION AND FERTILIZER SCIENCES
Vol.1 No.1
Mar.1995

# 硼对甘蓝型油菜蛋白质的影响*

王震宇　张福锁

（北京农业大学植物营养系，　100094）

**摘　要**

利用比色法和聚丙烯凝胶电泳法分析了不同硼营养状况下甘蓝型油菜的幼苗叶片及开花期花药内可溶性蛋白质含量及组分的变化。结果表明，缺硼或硼过量都会造成幼苗叶片及花药内蛋白质含量显著下降；从电泳图谱中也可看出，可溶性蛋白质的组分也发生了变化。不适当供硼（缺硼或硼过量）幼苗叶片及花药内所测的大部分蛋白质含量减少，有个别的蛋白质增加或缺失。

**关键词**　甘蓝型油菜，蛋白质，叶片，花药

了解不同硼素胁迫条件下，蛋白质代谢的异常变化是研究硼素营养机理的一个重要方面。虽然大量研究已表明硼参与了蛋白质代谢[1]，但有关硼素胁迫造成蛋白质组分变化的研究还未见报道。本文结合南方冬油菜大面积缺硼的特点，采用营养液和土壤盆钵两种培养方法，利用聚丙烯酰胺电泳法和比色法，对不同硼处理下油菜植株幼苗叶片及开花期花药内可溶性蛋白质含量及组分进行了比较研究，初步探索了硼胁迫蛋白存在的可能性。

## 材料与方法

**（一）供试植物**　甘蓝型油菜（*Brassica napus* L.）宁油7号（常规品种）和宁油8号（低芥酸品种）。种子由江苏省农业科学院作物研究所提供。

**（二）溶液培养试验**　种子用0.1%$HgCl_2$溶液灭菌5min，在25℃培养箱中用蒸馏水浸泡10h，取出后播于湿润的蛭石中，待子叶展开后，移载于Hoagland营养液[2]中培养。试验设3个处理：缺硼（B 0.01mg/L，0.01B），正常供硼（B 1mg/L，1B），硼过量（B 20mg/L，20B）。营养液pH调整至5.5左右。5叶1心时，于上午8～9时取地上部第4、5片展开叶，供测定分析。

**（三）土培试验**　供试土壤采自江苏省溧水县傅家边林场，土壤类型为马肝土，质地为壤质粘土。土壤含有效硼0.1mg/kg（40℃热水溶性）。试验用塑料桶，每桶装土10kg。氮、磷、钾用分析纯试剂$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$、$KH_2PO_4$、$K_2SO_4$，按每公斤土壤加入0.15gN、0.2g$P_2O_5$和0.2g$K_2O$混匀。试验设3个水平，即缺硼（B 0.1mg/kg，0.1B），正常供硼（B 1mg/kg，1B）硼过量（B 10mg/kg，10B）。所有肥料均在播种前作基肥一次施入。整个生育期间均用蒸馏水浇灌。在开花期采取于上午8时开放的主花序上的花朵，放入－40℃冰箱中备用。

**（四）蛋白质含量的测定**　同Bradford（1976）法[3]。

**（五）可溶性蛋白质SDS－聚丙烯酰胺凝胶电泳**　0.2g 花药（0.3g叶片）加1ml 0.1mol/L 磷酸缓冲液（pH

* 国家自然科学基金资助

7.0)研磨匀浆后，4℃，12500g离心25分钟，取上清液加2X样品缓冲液(0.125mol tris-HCl，pH6.8，20% glycerol，10% 2-mecaptoethanol，4% SDS，0.002% bromphenol blue)[4]作为电泳样品，每孔加样量为30 μ L。用LKB电泳仪进行水平SDS—PAGE。浓缩胶浓度为4.5%，pH 6.8，分离胶浓度为12%，pH8.8。浓缩胶电流25mA，分离胶电流为35mA。电泳完毕后，用考马斯亮蓝G-250(1.25g coomassie blue G250，230ml ethanol，230ml distilled water，40ml aictic acid)染色。可溶性蛋白质谱带扫描：用岛津CS—930薄层扫描仪，扫描波长为550 nm。

| 标准蛋白： | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | phosphorylade | 96000 | trypsin | 21000 |
| | BSA | 68000 | lysozyme | 14300 |
| | ovalbumin | 43000 | | |

## 二、 结果与分析

### (一) 施硼对可溶性蛋白质含量的影响

缺硼和硼过量处理都会使幼苗叶片中可溶性蛋白质含量下降。宁油7号、宁油8号缺硼处理后分别降至正常供硼的73.46%和63.88%，硼过量处理后降至正常供硼的86.44%和74.46%。表明硼素缺乏和过量都会导致蛋白质代谢异常(图1)。

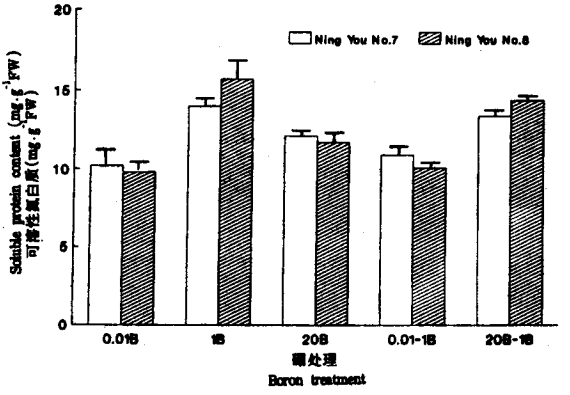



图 1　硼对幼苗叶片可溶性蛋白质含量的影响

Fig. Effect of boron on solubie protein content of seedling leaves

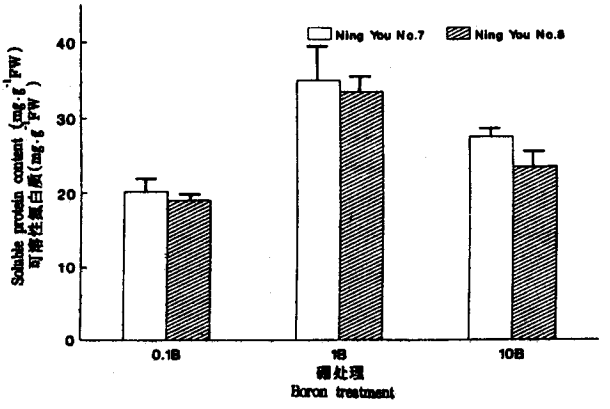



图 2　硼对花药中可溶性蛋白质含量的影响

Fig.2　Effect of boron on soluble protein contont of anthers

蛋白质是花药的主成分，可溶性蛋白质的合成对于花药发育是十分重要的。由图2可以看出，缺硼与硼过量处理都可使可溶性蛋白质急剧下降，分别比正常供硼处理减少了43.75%和29.22%。

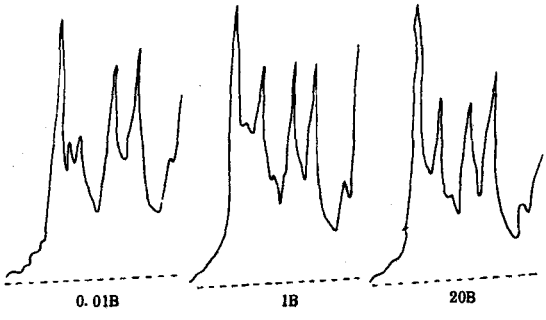
**（二）可溶性蛋白质SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱及扫描曲线的分析**

电泳及扫描结果表明，植株幼苗叶片及花药可溶性蛋白质的带型大体一致，但蛋白质的相对含量却有明显的差异（图3—6）。说明在缺硼及硼过量条件下，可溶性蛋白质组分是有变化的。

1. 缺硼幼苗叶片与正常供硼叶片比较　宁油7号中 83.81KD，68.06KD，54.03KD，45.2KD，31.90KD等五种分子量的蛋白质含量都有不同程度的减少；21.21KD，12.10KD两种分子量的蛋白质量增多；在谱带上没有发现分子量为 75.83KD分子量的蛋白质；宁油8号中135.30KD，85.13KD，55.06KD，45.78KD 等分子量的蛋白质减少；32.41KD，21.54KD，12.34KD 等分子量的蛋白质增多，谱带上没有发现分子量为68.06KD和23.58KD 的蛋白质。

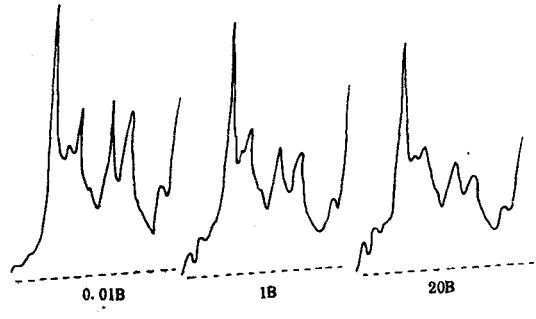
2. 硼过量幼苗叶片与正常供硼叶片比较　宁油7号中22.94KD分子量的蛋白质增多，而83.81DK、68.06KD、31.90KD，21.21KD，12.10KD 等分子量的蛋白质都有下降。宁油8号中109.86KD，85.13KD，66.74KD，55.06KD，45.78KD，32.41KD，23.58KD，21.54KD，12.34KD等分子量的蛋白质减少；而 130.61KD，169.24KD 两种分子量的蛋白质增多，谱带上没有发现分子量为68.06KD 的蛋白质。

3. 缺硼花药与正常供硼花药相比较　宁油7号中 104.01KD，76.87KD，60.98KD，42.32KD，17.70KD，11.23KD 等分子量的蛋白质量减少，26.53KD，19.60KD 两种分子量的蛋白质增多，在谱带上没有发现分子量为35.05KD和21.71KD 的蛋白质。宁油8号中 76.87KD，43.67KD，26.84KD，17.63KD，15.01KD，11.36KD 等分子量的蛋白质含量减少，128.07KD，61.22KD 两种分子量的蛋白质量增多，在谱带上没有发现分子量为141.27KD 的蛋白质。




硼处理
Boron treatment

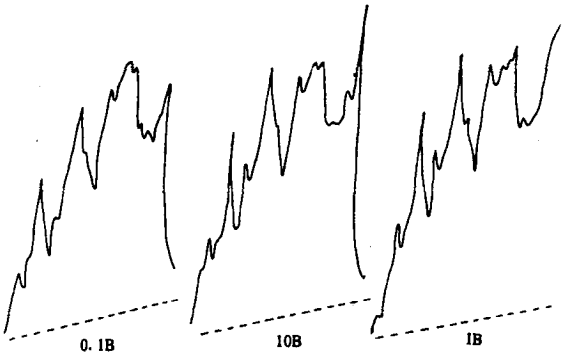
图 3　宁油7号幼苗叶片可溶性蛋白质电泳扫描曲线
Fig.3 The eletrophoretic scanning curves of soluble protein from seedling leaves in Ningyou No.7




硼处理
Boron trreatment

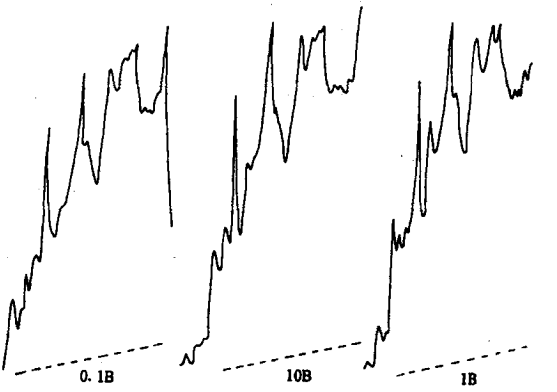
图 4　宁油8号幼苗叶片可溶性蛋白质电泳扫描曲线
Fig.4 The eletrophoretic scanning curves of soluble protein from seedling leaves in Ningyou No.8

4. 硼过量花药与正常供硼花药比较　宁油7号中 76.87KD，42.32KD，35.05KD，17.07KD，11.23KD 等分子量的蛋白质减少，37.04KD，19.60KD，两种分子量的蛋白质增多，在谱带上没有发现分子量为35.05KD 的蛋白质。宁油8号中 141.27KD，115.6KD，76.8KD，63.92KD 等分子量的蛋白质有所减少，61.22KD 一种分子量的蛋白质增多。




硼处理
Boron treatment

图 5 宁油7号花药可溶性蛋白质电泳扫描曲线
Fig.5 The eletrophoretic scanning curves of soluble protein from anthers in NingYou No.7




硼处理
Boron trreatment

图 6 宁油8号花药可溶性蛋白质电泳扫描曲线
Fig.6 The eletrophoretic scanning curves of soluble protein from anthers in Ning YouNo.8

## 三、讨　论

硼素胁迫条件下，油菜幼苗叶片及花药内蛋白质含量显著下降[6]。这一方面是由于缺硼或硼过量增强了蛋白酶活性，加剧了蛋白质的水解作用，导致植株体内游离氨基酸库容增大(王震宇等，待发表)。游离氨基酸的积累很可能又对硝酸还原酶的合成产生反馈抑制，使硝酸还原酶的活性下降，导致植株吸收同化氮素能力降低。另一方面，缺硼或硼过量也对蛋白质合成系统产生抑制作用。硼胁迫不仅抑制了植株对氮素的吸收，而且更加严重地抑制了蛋白质的合成。研究表明，缺硼处理的植株幼苗叶片及花药内RNA和DNA含量都显著下降(王震宇等，待发表)。另有实验表明，逆境胁迫不仅对RNA量产生抑制，也会对RNA翻译活性产生负效应，进而对整个蛋白质的合成效率产生制约作用[7]。因此，可以推断，硼素胁迫时蛋白质含量显著下降是其分解加剧和合成受阻两方面的原因造成的。

目前，还未发现有关于硼素胁迫下植株蛋白质组分变化的研究报道。从我们的研究结果来看，不同硼处理可溶性蛋白质的带型基本一致。但缺硼和硼过量植株蛋白质的相对强度要比正常供硼低得多。这也正好与比色法测定的结果相吻合。另外，不同的品种、不同硼处理植株可溶性蛋白质的组分也有一定差异，但规律性差，尚需进一步的深入研究来确定是否存在有硼素胁迫造成的特异蛋白。

## 参 考 文 献

[1] Gauch HG, Dugger WM Jr., 1954: The physiological action of boron in higher plants: review and interpretation. Univ.Maryland AES Bull, 80: 1-43(Technical)

[2] 倪晋山，1985:植物对矿质元素的需要—溶液培养技术。植物生理学实验手册。上海科学技术出版社,P.61

[3] Bradford M.M., 1976: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye biding. Anal Biochem, 72:248

[4] 北京大学生物遗传教研室编,1983: 遗传学实验方法和技术。高等教育出版社,P.82

[5] Labortory Manual, 1983: LKB 2117 Mutiphor Ⅱ Electrophoresics system. Copyright. LKB producter A.B. Bromma Sweden.

[6] 王震宇,沈康,张福锁,1994: 硼对甘蓝型油菜生长和蛋白质代谢的影响。现代土壤科学研究(第五届全国土壤科学工作者学术讨论会论文集),P.685-687.

[7] 张慧,汪沛洪,1991: 渗透胁迫下小麦叶片蛋白质合成与降解的示踪研究。植物生理学报,17(3):259-266.

# EFFECT OF BORON ON PROTEIN CONCENTRATION AND COMPONENT IN *BRASSICA NAPUS* L.

Wang Zhengyu Zhang Fusuo

*(Beijing Agricultural University, 100094)*

## Summary

The changes of soluble protein concentration and composition in leaves and anthers of rape (*Brassica napus L.*) plants under the different boron nutritional conditions were studied with nutrient solution and soil culture. The results showed that under boron stress (low or high boron) the protein content in leaves and anthers was decreased markedly. The component of soluble protein in the same parts of the plants was also changed. Under the boron stress the content of the most measured protiens was decreased, the others were increased or absent.

**Key words** *Brassica napus* L., Protein, Boron stress