

# 抗旱性不同的高原春小麦品种 - 淀粉酶活性和胚芽鞘长度的研究

赵会君<sup>1,2</sup>, 张怀刚<sup>1\*</sup>, 相微微<sup>1</sup>, 柳 颢<sup>1</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要** [目的] 为小麦抗旱育种提供依据。[方法] 通过非干旱胁迫与干旱胁迫萌发试验, 研究抗旱性不同的高原春小麦品种胚芽鞘长度与 $\alpha$ -淀粉酶活性的变化规律及其相互关系。[结果] 非干旱胁迫下, 抗旱性强的品种胚芽鞘长度均大于干旱敏感的品种; 萌发试验 60 h 或 72 h 时各品种 $\alpha$ -淀粉酶活性达最大, 之后迅速下降。干旱胁迫下, 干旱敏感的品种胚芽鞘生长受到的抑制作用更加明显; 抗旱性强的品种 $\alpha$ -淀粉酶活性高于干旱敏感的品种。干旱胁迫下 $\alpha$ -淀粉酶活性与胚芽鞘长度呈显著相关( $P < 0.05$ ), 相关系数为 0.675。[结论] 小麦抗旱育种应选择胚芽鞘较长和干旱胁迫下 $\alpha$ -淀粉酶活性受抑制程度较小的基因型。

**关键词** 小麦; 胚芽鞘;  $\alpha$ -淀粉酶; 抗旱性

**中图分类号** S512.1<sup>+</sup>2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)13-05269-03

## Studies on $\alpha$ -amylase Activity and Coleoptile Length in Plateau Spring Wheat Varieties with Different Drought Resistance

ZHAO Hui-jun et al (Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai 810001)

**Abstract** [Objective] The aim of the research was to provide the basis for the drought-resistant breeding of wheat. [Method] In the germination tests under drought stress and non drought stress, the change law of coleoptile length and  $\alpha$ -amylase activity in plateau spring wheat varieties with different drought stress and their interrelation were studied. [Result] Under non drought stress, the coleoptile length in the varieties with strong drought resistance were all larger than that in the varieties with sensitivity to drought resistance. When the germination test was made for 60 or 72 h,  $\alpha$ -amylase activities reached the maximum and then rapidly reduced. Under drought stress, the inhibition on the growth of coleoptile in the varieties with sensitivity to drought was more obvious. And the activity of  $\alpha$ -amylase in the varieties with stronger drought resistance was higher than that in the varieties with sensitivity to drought. Under drought stress, the activity of  $\alpha$ -amylase and the coleoptile length showed a significant correlation ( $P < 0.05$ ), with the correlation coefficient of 0.675. [Conclusion] In the drought-resistant breeding of wheat, the genotypes with longer coleoptiles and smaller inhibition degree of  $\alpha$ -Amylase activity under drought stress should be selected.

**Key words** Wheat; Coleoptile;  $\alpha$ -amylase; Drought stress

春旱是西北地区比较常见的自然灾害, 尤其是在年蒸发量比较大的高原地区, 春小麦在播种期的萌发势和发芽率直接影响着群体的建成以及后期生长与产量的形成。萌发阶段胚芽鞘是小麦幼嫩子叶的保护组织, 它的长短与伸长速率影响着小麦的初级生长状况, 是小麦尽快摆脱不良环境而自养的重要因素。有关研究发现, 干旱胁迫后胚芽鞘的长度与抗旱系数呈极显著正相关, 胚芽鞘的长度可以作为一个比较可靠的抗旱筛选指标<sup>[1-2]</sup>。小麦在芽鞘生长阶段主要能量来源为 $\alpha$ -淀粉酶水解淀粉产生可溶性糖类物质, 供小麦尽快地生长<sup>[3-6]</sup>。以胚芽鞘长度来衡量小麦抗旱性的报道较多, 但就萌发阶段的生理生化方面研究少有报道。为揭示不同抗旱性高原春小麦品种在干旱环境下萌发的生理生化机制, 为适时农业生产和抗旱育种提供科学依据, 笔者选用中国科学院西北高原生物研究所培育的抗旱品种<sup>[7-9]</sup>作为萌发试验材料, 以该所培育的干旱敏感品种作对照, 并用抗旱性强的定西 24 为参照。通过非干旱与干旱胁迫发芽试验, 研究不同品种萌发阶段芽鞘长度与 $\alpha$ -淀粉酶活性的变化规律。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 试验材料为中国科学院西北高原生物研究所和甘肃省定西地区旱作农业研究中心培育的抗旱性不同的春小麦品种, 其中高原 602、高原 671、定西 24 抗旱性较强, 是青海、甘肃等地区旱地种植的重要品种; 高原 913、高原 158 为中等抗旱品种; 高原 448、高原 205、高原 314 和高原 V028 为干旱敏感品种。

## 1.2 方法

**1.2.1 非干旱胁迫萌发试验(CK)**。各品种挑选饱满完整的种子 100 粒, 室温下使种子吸水 8 h, 用 10% 的 HClO 消毒 10 min, 蒸馏水冲洗干净, 取 15 cm 大小铺有双层滤纸的培养皿, 将种子摆放整齐, 加蒸馏水 6 ml 后置 28℃ 暗培养。每天加入蒸馏水 6 ml。非胁迫下芽鞘生长迅速, 以暗培养 0、24、32、48、60、72、84 h 随机取 20 粒测量胚芽鞘长度(精确到 0.1 cm), 部分样品用于测定 $\alpha$ -淀粉酶活性。

**1.2.2 干旱胁迫萌发试验(T)**。种子前期处理同上, 将种子摆放整齐后加 6 ml 20% PEG6000 置于 28℃ 暗培养。每天加 6 ml 20% PEG6000, 干旱胁迫下芽鞘生长缓慢, 分别在暗培养 0、1、2、3、4、5 d 随机取 20 粒测量胚芽鞘长度(精确到 0.1 cm), 部分样品用于测定 $\alpha$ -淀粉酶活性。

**1.2.3  $\alpha$ -淀粉酶活性测定**。每次测完胚芽鞘长度后各品种称取 1.0 g 样品, 重复 3 次, 采用 3, 5-二硝基水杨酸(DNS)测定还原糖法测 $\alpha$ -淀粉酶活性<sup>[10]</sup>。

**1.2.4 胚芽鞘长度和 $\alpha$ -淀粉酶活性胁迫指数计算**。胚芽鞘胁迫指数 % = [芽鞘长度(CK) - 芽鞘长度(T)] / 芽鞘长度(CK) × 100;  $\alpha$ -淀粉酶活性胁迫指数 % = [  $\alpha$ -淀粉酶活性(CK) -  $\alpha$ -淀粉酶活性(T) ] /  $\alpha$ -淀粉酶活性(CK) × 100。

**1.2.5 数据处理**。试验数据用 SPSS 软件进行分析。

## 2 结果与分析

**2.1 非干旱胁迫下不同品种在各萌发时间胚芽鞘长度变化** 当温度适宜和水分充足时, 小麦的胚芽鞘生长迅速, 能很快破芽进入幼苗生长阶段。经多次试验, 以 0、24、32、48、60、72、84 h 来划分取样。非干旱胁迫下不同品种的胚芽鞘生长情况如表 1 所示, 各品种芽鞘生长基本一致, 在 72 h 时, 几乎所有品种都破芽进入幼苗生长阶段; 在 84 h 时, 胚芽鞘长度大小依次为高原 671 > 高原 602 > 高原 158 > 定西 24 > 高原

**基金项目** 青海省重点科技攻关项目(2006-N-137); 中国科学院知识创新工程方向性项目(KSCX2-YW-N-052)。

**作者简介** 赵会君(1980-), 女, 宁夏隆德人, 硕士研究生, 研究方向: 小麦抗旱生理。\*通讯作者。

**收稿日期** 2008-02-29

913 > 高原 448 > 高原 314 > 高原 V028 > 高原 205。结果表明, 感的品种, 差异显著。非干旱胁迫下, 胚芽鞘长度仍然能够萌发试验 84 h 后抗旱性强的品种胚芽鞘长度均大于干旱敏 很好地显示品种抗旱性的强弱。

表 1 非干旱胁迫下不同品种各萌发时间胚芽鞘长度差异性

Table 1 Difference of coleoptile length in different cultivars at different germination time under non-drought stress

品种 Cultivar	取样时间 Sampling time h					
	24	36	48	60	72	84
高原 602 Plateau 602	0.36 abAB	0.58 cdBCD	1.26 bc	1.92 cdCD	2.72 cCD	3.55 aA
高原 671 Plateau 671	0.35 abcABC	0.64 abAB	1.48 aAB	2.27 aA	3.42 aA	3.68 aA
定西 24 Dingxi 24	0.39 aA	0.61 bcdABC	1.54 aA	2.01 bcBC	2.65 cCD	3.10 cdBC
高原 913 Plateau 913	0.37 abAB	0.60 bcdABC	1.35 bBC	2.06 bBC	2.75 cCD	3.21 bcB
高原 158 Plateau 158	0.38 abA	0.66 aA	1.33 bBC	2.12 bAB	3.02 bB	3.26 bB
高原 448 Plateau 448	0.31 cdBC	0.56 deCD	1.34 bBC	1.64 eE	2.51 dD	3.05 cdeBC
高原 314 Plateau 314	0.35 abcABC	0.62 abcABC	1.32 bcC	2.12 bAB	2.83 cC	2.95 deC
高原 V028 Plateau V028	0.34 bcdABC	0.52 eFDE	1.21 cdCD	1.81 dD	2.71 cCD	2.91 eC
高原 205 Plateau 205	0.30 dC	0.48 fE	1.14 dD	2.04 bcBC	2.61 cCD	2.87 eC

注: 小写字母表示在 5% 水平上差异显著, 大写字母表示在 1% 水平上差异显著, 下表同。

Note: Small letters and capital letters mean significantly different at 0.05 and 0.01 level, respectively. The same as below.

## 2.2 非干旱胁迫下不同品种在各萌发时间淀粉酶活性变化

非干旱胁迫下整个萌发阶段 - 淀粉酶活性在品种间有差异, 但在 60 h 或 72 h 时全部品种 - 淀粉酶活性都出现最大值, 之后其活性迅速下降(表 2), 这可能与底物淀粉急速减少有关。这些规律同 Georg-kraemer 等在大麦发芽过程中淀粉酶变化的研究结果基本一致<sup>[11]</sup>。值得指出的是, 有的品种干种

子浸种 24 h 后 - 淀粉酶活性有显著下降趋势, 36 h 后酶活性显著提高, 这是由于在种子吸水膨胀过程中干种子中储藏的 - 淀粉酶被胚乳消耗较多所致, 也可能是非胁迫环境下种子胚乳活化速率较快, 露白较早的原因。之后盾片和糊粉层开始合成新的 - 淀粉酶。这一现象在水稻种子萌发过程中也曾观察到。

表 2 非干旱胁迫下不同品种各萌发时间 - 淀粉酶活性的差异性

Table 2 Difference of  $\alpha$ -amylase activities in different cultivars at different germination time under non-drought stress

品种 Cultivar	取样时间 Sampling time h						
	0	24	36	48	60	72	84
高原 602 Plateau 602	0.39 bB	3.16 aA	5.16 bB	6.74 bcBC	7.54 cdCD	13.31 aA	5.49 abAB
高原 671 Plateau 671	0.21 bB	0.92 deE	2.83 dDE	5.14 dDE	6.71 deD	12.09 bB	4.05 cdeBCD
定西 24 Dingxi 24	0.93 aA	2.18 bBC	4.67 bcB	5.41 dCDE	13.41 aA	4.28 eE	4.58 bcdBCD
高原 913 Plateau 913	1.07 aA	0.68 eE	4.28 cBC	4.84 dE	6.07 eD	9.34 dD	1.45 gF
高原 158 Plateau 158	0.28 bB	0.38 abA	1.94 eE	5.79 cdBCD	11.64 bB	4.59 eE	3.51 eDE
高原 448 Plateau 448	0.90 aA	0.31 cdB	6.31 aA	8.28 aA	8.43 cC	10.15 dCD	2.47 fEF
高原 314 Plateau 314	0.37 bB	0.35 abc	3.21 dD	7.24 bAB	7.62 cdCD	11.13 cBC	3.96 deCD
高原 V028 Plateau V028	0.32 bB	0.34 bcd	3.57 dCD	6.49 bcBCD	8.63 cC	10.06 dCD	6.41 aA
高原 205 Plateau 205	0.41 bB	0.31 dC	3.55 dCD	4.75 dE	8.56 cC	11.11 cBC	5.04 bcABC

## 2.3 干旱胁迫下不同品种在各萌发时间胚芽鞘长度变化

抗旱性不同的品种在干旱胁迫下胚芽鞘的生长趋势不一致,

抗旱性强的品种干旱胁迫下生长趋势较大, 而干旱敏感品种生长趋势较小(表 3)。

表 3 干旱胁迫下不同品种各萌发时间胚芽鞘长度的差异性

Table 3 Difference of coleoptile length in different cultivars at different germination time under drought stress

品种 Cultivar	取样时间 Sampling time d					
	0	1	2	3	4	5
高原 602 Plateau 602	0	0.12 bB	0.93 aA	2.09 aA	3.23 aA	3.53 aAB
高原 671 Plateau 671	0	0.21 aA	0.70 cB	1.35 cC	2.31 bcBC	3.61 aA
定西 24 Dingxi 24	0	0.13 bAB	0.66 cB	1.31 cC	2.16 cD	3.10 cC
高原 913 Plateau 913	0	0.11 bB	0.85 abA	1.85 bB	3.05 aA	3.31 bBC
高原 158 Plateau 158	0	0.14 AB	0.83 bA	1.84 bB	2.49 bB	3.18 bcC
高原 448 Plateau 448	0	0.16 aA	0.50 dC	0.91 deDE	1.49 deD	2.52 dD
高原 314 Plateau 314	0	0.16 aA	0.42 dC	0.82 eE	1.40 eD	2.22 eDE
高原 V028 Plateau V028	0	0.11 bB	0.29 eD	1.04 dD	1.65 dD	2.11 eE
高原 205 Plateau 205	0	0.10 bB	0.28 eD	0.56 fF	0.99 fE	1.55 fF

从萌发试验的第 2 天起, 不抗旱品种胚芽鞘生长受到干旱的抑制作用较大, 其胚芽鞘长度明显短于抗旱性较强的品

种; 到第 5 天, 胚芽鞘长度顺序依次为: 高原 671 > 高原 602 > 高原 913 > 高原 158 > 定西 24 > 高原 448 > 高原 314 > 高原

V028 > 高原 205; 第 5 天之后抗旱性较强的品种开始破芽进入幼苗生长阶段, 而不抗旱品种高原 205 和高原 314 及部分高原 448 仍然处于胚芽鞘生长阶段。

**2.4 干旱胁迫下不同品种在各萌发时间  $\alpha$ -淀粉酶活性变化**  
抗旱性不同的品种在干旱胁迫下种子萌发过程中  $\alpha$ -淀粉酶活性变化见表 4。 $\alpha$ -淀粉酶活性在干种子以及萌发的前 24 h 内均很低, 此时的品种之间没有大的差别。这是因为  $\alpha$ -淀粉酶是在种子萌发阶段产生的, 随着萌发时间的延长而增

加<sup>[12-13]</sup>。品种间  $\alpha$ -淀粉酶活性在不同萌发天数内差异极显著 ( $F = 24.898$ )。在萌发试验的第 4 天, 除干旱敏感的高原 205、高原 314、高原 448 外, 其余品种  $\alpha$ -淀粉酶活性达到最大值; 抗旱性强的品种  $\alpha$ -淀粉酶活性较大, 最大的为高原 671, 其次是高原 602、高原 158, 抗旱品种与干旱敏感品种间差异极显著。在萌发的第 5 天, 抗旱性强的品种  $\alpha$ -淀粉酶活性开始下降, 而干旱敏感品种高原 205、高原 314 和高原 V028 的  $\alpha$ -淀粉酶活性还在缓慢增加。

表 4 干旱胁迫下不同品种各萌发时间  $\alpha$ -淀粉酶活性的差异性

Table 4 Difference of  $\alpha$ -amylase activities in different cultivars at different germination time under drought stress

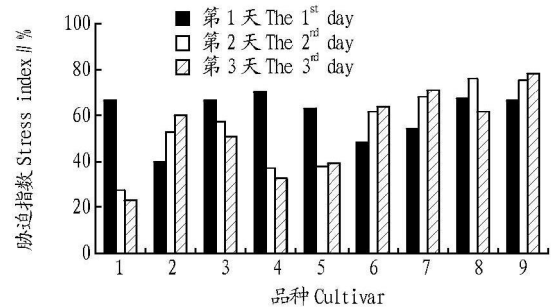
品种 Cultivar	取样时间 Sampling time d					
	0	1	2	3	4	5
高原 602 Plateau 602	0.43 cC	1.79 abAB	6.68 aA	11.82 aA	15.91 abA	5.98 cBC
高原 671 Plateau 671	0.18 eD	2.15 aA	6.06 bA	10.20 bA	16.40 aA	8.01 bB
定西 24 Dingxi 24	0.74 bB	1.55 bcABC	4.59 cB	10.41 bA	13.76 cB	4.95 dC
高原 913 Plateau 913	1.02 aA	1.57 bcABC	3.57 dC	8.71 cB	14.80 bcAB	5.16 dC
高原 158 Plateau 158	0.27 deCD	1.39 bcdBCD	5.16 cB	7.98 cB	15.73 abA	5.07 dC
高原 448 Plateau 448	0.72 bB	1.01 deCD	4.97 cB	8.40 cB	11.44 cB	6.89 bB
高原 314 Plateau 314	0.35 cdC	1.15 cdeBCD	3.10 dC	5.70 dC	8.58 eC	9.86 aA
高原 V028 Plateau V028	0.28 deCD	0.92 deCD	3.12 dC	8.24 cB	10.26 dC	10.58 aAB
高原 205 Plateau 205	0.38 cdC	0.76 eD	1.91 eD	4.33 eC	6.57 fD	6.71 bB

**2.5 干旱胁迫对胚芽鞘长度与  $\alpha$ -淀粉酶活性的影响** 笔者分别介绍了不同品种在干旱胁迫与非干旱胁迫下萌发过程中胚芽鞘长度与  $\alpha$ -淀粉酶活性的变化。为探讨干旱胁迫对胚芽鞘长度与  $\alpha$ -淀粉酶活性的影响, 笔者引用了胁迫指数。由于 28 非干旱胁迫下胚芽鞘生长迅速, 3 d 后就已经进入幼苗生长阶段, 比干旱胁迫下的快 2~3 d。萌发过程的前 3 d 各品种胚芽鞘长度和  $\alpha$ -淀粉酶活性胁迫指数分别见图 1、2。第 1 天全部品种的胚芽鞘长度都受到明显抑制, 到第 2、3 天干旱对抗旱性强的高原 602 和定西 24 等品种胚芽鞘长度抑制程度小于干旱敏感品种高原 205 和高原 V028 等。在萌发的第 1 天, 有 7 个品种的  $\alpha$ -淀粉酶活性胁迫指数为负值, 这一方面可能是在非干旱胁迫下种子中储藏的  $\alpha$ -淀粉酶被胚乳消耗较多, 而合成新的  $\alpha$ -淀粉酶尚未开始; 另一方面可能是在干旱胁迫下种子中储藏的  $\alpha$ -淀粉酶被胚乳消耗较少, 造成在萌发第 1 天干旱胁迫指数为负值。第 2 天干旱胁迫对干旱敏感品种的  $\alpha$ -淀粉酶活性抑制明显, 到第 3 天抑制作用更加明显。相关性分析表明, 干旱胁迫下胚芽鞘长度与  $\alpha$ -淀粉酶活性之间呈显著正相关, 相关系数为 0.675。胁迫指数反映了干旱对各品种的抑制程度, 抗旱品种  $\alpha$ -淀粉酶活性受抑制较小, 能较快地水解淀粉提供营养物质供小麦尽快摆脱不良环境。由此推断, 干旱胁迫对抗旱性不同的品种  $\alpha$ -淀粉酶活性的抑制程度不同, 从而影响了各品种萌发进度和芽鞘生长速率。

### 3 讨论

(1) 胚芽鞘长度是萌发速率的直接体现, 对于逆境胁迫下小麦萌发阶段胚芽鞘报道较多, 大多注重于形态方面的研究。相关研究认为, 低水势下胚芽鞘长度是抗旱鉴定与抗旱育种个体选择的良好指标, 胚芽鞘筛选法获得的结果与品种在生产中所表现的抗旱性一致, 逆境胁迫下的芽鞘能大量积累多胺物质增加渗透调节能力<sup>[14]</sup>, 并且抗旱性品种胚乳活性

较强,  $\alpha$ -淀粉酶同工酶可以作为抗性品种的分子标记<sup>[15-16]</sup>。



注: 1、2、3、4、5、6、7、8、9 分别代表品种高原 602、高原 671、定西 24、高原 913、高原 158、高原 448、高原 314、高原 V028、高原 205。下同。  
Note: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 stand for Plateau 602, Plateau 671, Dingxi 24, Plateau 913, Plateau 158, Plateau 448, Plateau 314, Plateau V028 and Plateau 205, respectively. The same as below.

图 1 不同品种各时间胚芽鞘长度胁迫指数

Fig. 1 Stress index of coleoptile length in different cultivars at different germination time

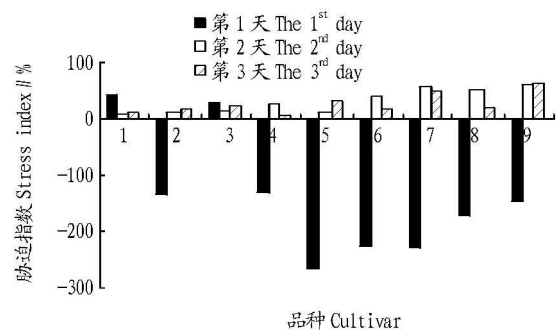


图 2 不同品种各时间  $\alpha$ -淀粉酶活性胁迫指数

Fig. 2 Stress index of  $\alpha$ -amylase activities in different cultivars at different germination time

(下转第 5326 页)

料跑出的带较弱外,各个提取物均呈现1条清晰整齐的主带,可用于进一步分析。

表1 火龙果材料提取的基因组DNA检测数据

Table 1 Detection data of genome DNA from Pitaya materials

	材料 Materials					
	1	2	3	4	5	6
OD <sub>260</sub>	0.621 7	0.956 8	1.388 7	1.866 6	2.979 9	1.021 2
OD <sub>280</sub>	0.305 2	0.466 1	0.706 9	0.957 7	1.502 0	0.487 0
OD <sub>260/280</sub>	2.036 9	2.052 5	1.964 5	1.949 1	1.983 9	2.097 0
Conc $\mu\text{g/ml}$	0.031	0.048	0.069	0.093	0.149	0.051

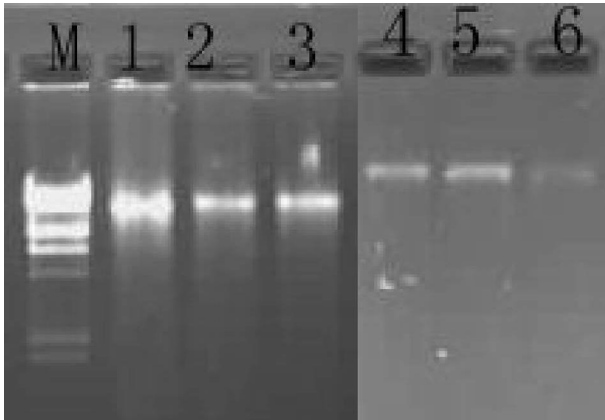


图1 提取基因组DNA的电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis result of genome DNA

### 3 讨论

(1) 火龙果基因组DNA的提取一般取新梢上3~5 cm

(上接第5271页)

(2) 就干旱胁迫对抗性不同的品种水解酶变化研究较少。对青海、甘肃两省主要旱地品种进行验证,结果表明:

在非干旱胁迫环境下,全部参试品种的胚芽鞘生长迅速,但抗旱性强的品种芽鞘仍然较长;在干旱胁迫下,全部参试品种的胚芽鞘生长受到抑制,但干旱敏感的品种受到的抑制作用更加明显。试验进一步表明,芽鞘长度能很好地显示品种之间抗旱性的强弱,胚芽鞘的生长是萌发期抗旱能力的综合反映。随着萌发的进行,-淀粉酶活性增加,在非干旱胁迫下虽有品种间差异,但在60 h或72 h时都能达到最大值;在干旱胁迫下,抗旱性强的品种-淀粉酶活性高于干旱敏感的品种。-淀粉酶活性的大小与它们萌发的快慢以及胚芽鞘生长量有很好的对应关系。这一结果与前人在小麦抗性研究中对胚乳活性及淀粉酶活性的研究结果一致。干旱胁迫下-淀粉酶活性与胚芽鞘生长呈显著相关,相关系数0.675。-淀粉酶活性影响小麦发芽率和幼苗成活率,是小麦能否摆脱干旱胁迫环境尽快进入自养阶段的重要因素。

(3) 在小麦抗旱育种过程中应选择胚芽鞘比较长的和干旱胁迫下-淀粉酶活性受抑制小的基因型,以培育抗旱性较强的新品种。干旱对萌发阶段抗旱性强的旱地春小麦品种胚乳活性抑制较小。可能在基因表达水平上,干旱对不同品种-淀粉酶同工酶的表达抑制程度的差异导致了-淀粉酶活性在不同抗旱性品种间差异显著。这有待于进

一步研究证实。另外,不同品系火龙果的基因组DNA提取得率也有差别,比如,同样的方法和条件,提取火龙果1~4号材料的DNA要比提取5、6号材料的DNA容易,且得率高。

(2) 火龙果嫩茎材料破壁方法是液氮研磨法,所加液氮要充足,研磨要充分,使材料成绿白色粉末。由于火龙果材料中含有大量粘液状的粘稠性物质,在研磨时要迅速,研磨好后快速转移至离心管中,保持样品成绿白色粉末,样品装好后迅速放入-20的冰柜或立即加入65℃下预热的细胞裂解液CTAB,然后迅速放入65℃的水浴锅中,否则会影响细胞的裂解过程。细胞的裂解是细胞释放DNA的前提,同时要使裂解环境适合细胞释放的DNA保持活性,温度保持在65℃,水浴1 h,时间太大会使DNA降解,太短则DNA释放不完全,影响DNA的得率。因此,破壁和细胞的裂解是DNA提取过程中很重要的步骤。

(3) 由于火龙果嫩茎材料呈粘稠状,离心分层效果差。同时,材料对有机试剂反应不大,但对KAc和异丙醇反应。因此,主要是采用饱和酚和氯仿使蛋白质变性而从液相分离出来,用KAc和异丙醇使DNA析出,通过适当延长抽提时间到20 min和增加1次抽提,从而提高基因组DNA的得率和纯度。

### 参考文献

- [1] 陶刚,刘作易,朱英,等. 水稻玉米基因组DNA提取方法的改进[J]. 贵州农业科学,2004,32(6):21-22.
- [2] 朱英,陶刚,刘作易,等. 琼脂糖凝胶电泳操作中值得注意的几个问题[J]. 贵州农业科学,2004,32(6):27-28.
- [3] 谭晓风,漆龙霖,黄晓光,等. 山茶属植物叶片DNA抽提[J]. 中南林业学院学报,1999,19(4):75-77.

### 参考文献

- [1] 王玮,邹琦. 胚芽鞘长度作为冬小麦抗旱性鉴定指标的研究[J]. 作物学报,1997,23(4):458-467.
- [2] 王玮,邹琦. 水分胁迫下冬小麦芽鞘长度与抗旱性的关系及其遗传特性的研究[J]. 西北植物学报,1997,17(4):493-498.
- [3] 艾志录,张晓宇,郭娟,等. 不同品种小麦发芽过程中淀粉酶活力变化规律的研究[J]. 中国粮油学报,2006,21(3):32-35.
- [4] 陆定志,施天生,陈龙飞. 杂交水稻干种子内存在-淀粉酶[J]. 植物生理学报,1987(13):418-421.
- [5] 陈爱国,陈进红. 胚芽鞘的伸长机理和生理生态响应[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2002,33(4):438-441.
- [6] 赵玉锦,王台. 水稻种子萌发过程中-淀粉酶与萌发速率关系的分析[J]. 植物学通报,2001,18(2):226-230.
- [7] 张怀刚,程大志. 抗旱优质春小麦新品种——高原671[J]. 麦类作物学报,2003,23(4):143.
- [8] 井春喜,张怀刚,李毅,等. 土壤水分胁迫对不同耐旱性春小麦品种叶片色素含量的影响[J]. 西北植物学报,2003,23(5):811-814.
- [9] 陈集贤,赵绪兰. 丰产抗旱春小麦高原602研究与应用[M]. 兰州:兰州大学出版社,1995.
- [10] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社:2000:169-172.
- [11] GEORG KRAEMER J E, MUNDSTOCK E C, CAVALLI-MOLINA S. Developmental expression of amylase during barley malting[J]. Journal of Cereal Science, 2001,33(3):279-288.
- [12] 阎娥,乔有明. 两燕麦品种种子萌发中淀粉酶活性变化的研究[J]. 草业科学,2006,23(9):96-98.
- [13] UMEUNRA T, PERATA P, FULSUHARA Y, et al. Sugar sensing and alpha-amylase gene repression in rice embryos[J]. Planta, 1998,204:420-428.
- [14] LIU HUAI PAN, ZHU ZI XUE, IU TIAN XUE, et al. Effect of osmotic stress on the kinds, forms and levels of polyamines in wheat coleoptiles[J]. Journal of Physiology and Molecular Biology, 2006,32(3):293-299.
- [15] 王翠亭,黄占景,何聪芬. 小麦耐盐突变体生化标记的研究[J]. 麦类作物学报,2002,22(1):10-13.
- [16] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京:中国科技出版社,1993.