

# 野生大豆 ( *Glycine soja* ) 热击 蛋白 ( HSP ) 的研究<sup>\*</sup>

## II . 松花江下游和长江下游地区 野生大豆 HSP 诱导合成的比较

陶 丹 尹田夫 王 萍 宋海星  
马淑英 李吉平 张让堂

(中国人民解放军农牧大学 长春 130062)

### 摘 要

本文对松花江下游地区野生大豆“01-32”和长江下游地区野生大豆“20122”的发育胚根在 40℃ 条件下进行 2, 4, 6, 8 和 10hr 的热击处理, 分析比较其热击蛋白 (HSP) 诱导合成的种类、累积量及累积动态。研究结果表明: 在 HSP 合成种类上, 除热击 2hr 为松花江下游野生大豆多于长江下游野生大豆, 其它热击时间均为后者多于前者; 小分子量蛋白的种类, 在各热击时间均为长江下游野生大豆多于松花江下游野生大豆。关于 HSP 的累积量, 除热击 6hr 长江下游野生大豆略低于松花江下游野生大豆, 其它热击时间均为前者明显高于后者。

关键词 野生大豆; HSP; 诱导合成

早在 1974 年 Tissierres<sup>[6]</sup> 等人首先报道热击诱导黑腹果蝇产生热击蛋白以来, 各国学者对热击应答进行了广泛的研究。自 80 年代初期对高等植物进行这方面的研究, 至今已发现在热击条件下玉米、棉花、大豆、水稻、烟草等都能诱导合成 HSP<sup>[5 7 8 9]</sup>。

热击蛋白是生物体受到高温影响时诱导细胞合成的一类蛋白, 它与生物体的耐热性具有较为密切的关系。我们在前面已有的工作基础上<sup>[1 2 3]</sup>, 以松花江下游和长江下游地区野生大豆为材料, 对不同地理种群野生大豆的热击反应及 HSP 的诱导合成进行了研究比较, 为进一步探讨野生大豆种群耐热性的遗传进化培育耐热优良大豆品种提供理论依据。

\* 收稿日期 1997-08-15

This paper was received on Aug. 15, 1997.

材料与方法

1 供试材料

1.1 野生大豆种质

松花江下游地区野生大豆“01-32”和长江下游地区野生大豆“20122”分别由黑龙江省农业科学院姚振纯先生和江苏省农业科学院祝其昌先生赠送

1.2 标准蛋白质

采用中国科学院上海生物化学研究所东风生化制剂厂分装进口的低分子量标准蛋白:

磷酸化酶 B	94KD
牛血清蛋白	67KD
肌动蛋白	43KD
碳酸酐酶	30KD
烟草花叶病毒外壳蛋白	17.5KD

2 试验方法

将供试材料置于 25℃ 恒温箱中催芽,当幼根长约 1.0- 1.5cm 左右时取 1cm 长根尖用于热击处理。

热击温度 40℃,热击时间分别为 2 4 6 8 10小时。样品制备、电泳及扫描等方法同“野生大豆 ( *Glycine soja* ) HSP的研究I 报”。

结果与分析

1 松花江下游与长江下游地区野生大豆诱导合成 HSP种类的比较

以常温 25℃ 做为对照,在 40℃ 条件下对材料进行 2 4 6 8 10hr 的热击处理。结果发现,不同材料、不同时间,其热击反应不同。在常温 25℃ 条件下,松花江下游地区野生大豆有 5 种分子量的蛋白,长江下游地区野生大豆有 6 种分子量的蛋白。

在 40℃ 热击 2hr 的情况下,松花江下游野生大豆种类增加到 9 种,而长江下游野生大豆变化不明显,为 7 种。前者的蛋白种类增加近 1 倍,而后者蛋白种类只增加 1 种。这说明前者对热击的反应较为敏感,后者较稳定。

松花江下游野生大豆在热击 4 6 8 10hr 时,蛋白种类分别为 6 8 7 7 种,即随着热击时间的延长逐渐趋于稳定。

长江下游野生大豆在热击 4 6 8 10hr 时,蛋白种类分别为 8 14 10 10 种,在热击 6hr 时达到高峰,为 14 种,高峰过后,逐渐趋于平稳。将以上两者比较发现,除 2hr,在其它热击时间,合成 HSP 的种类均为长江下游野生大豆多于松花江下游野生大豆。

在诱导合成小分子量 HSP 方面,以上两种野生大豆也有所不同。在常温 25℃ 条件下,松花江下游野生大豆有 1 种小分子量 ( YPOS> 100.0) 蛋白,长江下游野生大豆有 3 种小分子量蛋白种类分别为 2 2 3 3 2 种,变化不大,而后者则分别为 4 4 7 6 5 种,在

热击 6hr出现高峰 由此可见 ,后者诱导出的小分子量蛋白种类多于前者。

2 松花江下游与长江下游野生大豆 HSP累积及其动态

两种野生大豆在不同热击时间 ,其 HSP累积量的变化趋势差异明显 ,详见图 1及表 1

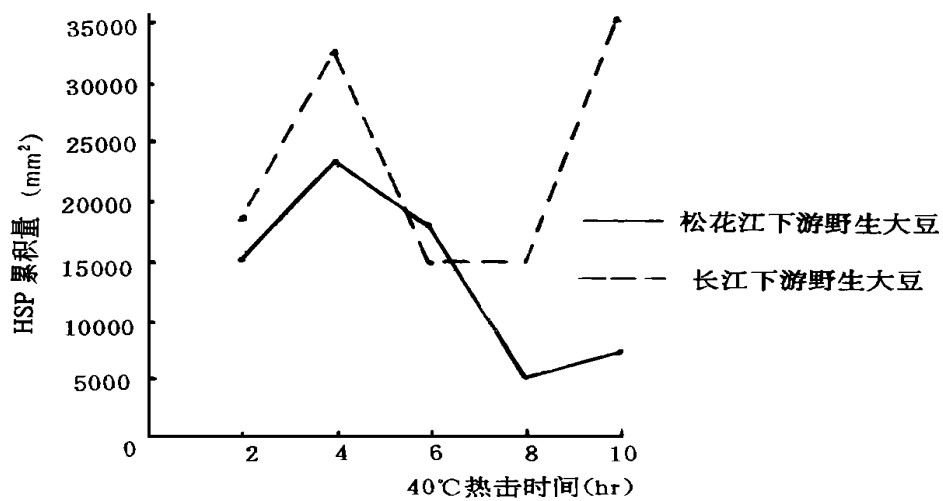


图 1 不同地理种群野生大豆 HSP累积动态

Fig. 1 HSP accumulation of wild soybean in different geographical species group

表 1 不同热击时间诱导合成 HSP累积量

Table 1 HSP accumulation in different heat shock time (mm²)

热击时间	HS time(hr)	2	4	6	8	10
HSP 积累量	野 01- 32 (松花江下游 )	15221. 820	23410. 570	17826. 740	4997. 250	7227. 456
HSP accu- mulation	20122 (长江下游 )	18575. 540	32341. 880	14859. 370	14807. 330	34972. 190

由表 1可以看出,松花江下游野生大豆在热击 2hr时, HSP累积量 (以扫描面积计算 )为 15221. 820mm<sup>2</sup>,热击 4hr时,迅速增加到 23410. 570mm<sup>2</sup>,以后迅速下降 ,至热击 8hr,降至最低点,为 4997. 250mm<sup>2</sup>,在热击 10hr时,有所反弹;长江下游野生大豆不同热击时间的 HSP累积量变化趋势与前者基本相同,都在 8hr达到最低点。而在热击时间相同的情况下,几乎总是长江下游野生大豆的 HSP累积量高于前者 (仅在热击 6hr略低于前者 ),其中尤以热击 4 8 10hr差异极为明显 (详见图 2和图 3,仅以 8hr为例)。这种累积量的差异说明生长于较热地区的长江下游野生大豆 ,其耐热性明显强于生长在较冷地区的松花江下游野生大豆。

讨 论

不同地理种群野生大豆对热击的反应是不同的,在 40℃热击 2hr的情况下,松花江下游野生大豆的蛋白质种类由常温 ( 25℃ )时的 5种猛增到 9种,而长江下游野生大豆蛋

白质种类变化不大,原来为 6 种,热击 2hr后达到 7种。前者对热击的反应是非常敏感的,这很可能是由于松花江下游野生大豆生长于高纬度地区,该地区气候冷凉,有效积温较少,长期生长在这里的野生大豆与这种气候条件形成了特定生态适应,对于另一种高温条件的耐受性较弱,因而对热击的反应十分敏感,这快速适应外界环境,诱导合成多种 HSP。相比之下,长江下游地区野生大豆对 40℃热击 2hr的反应较为平稳。这与该地区的气候条件(尤其是温度)有着密切的关系,该地区作物生长季节温度较高,由于长期自然选择的结果,形成了与该地气候条件相适应的生态类型,表现为耐热性较强。

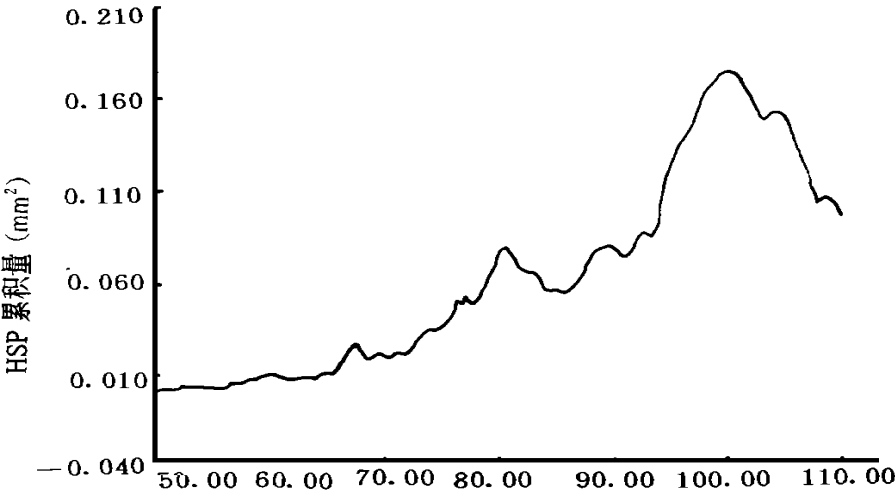


图 2 40℃条件下热击 8hr松花江下游野生大豆的 HSP累积量扫描图

Fig. 2 Scanning figure on HSP accumulation of wild soybean from the lower reaches of Songhua River at 40℃ for 8hr

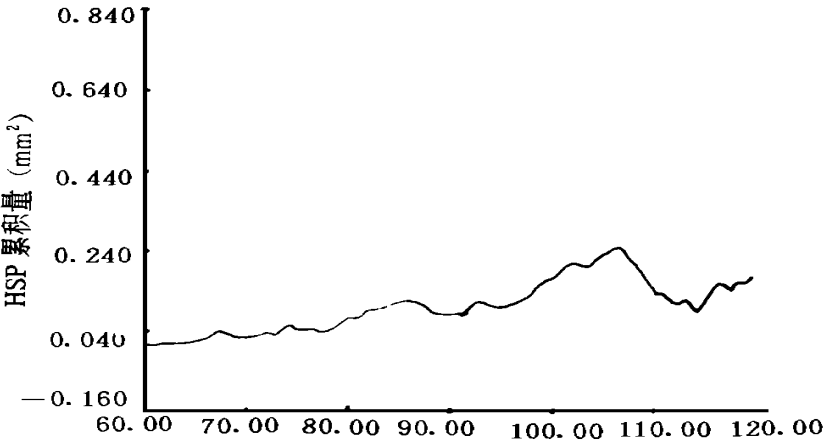


图 3 40℃条件下热击 8hr长江下游野生大豆的 HSP累积量扫描图

Fig. 3 Scanning figure on HSP accumulation of wild soybean from the lower reaches of Yangtze River at 40℃ for 8hr

对 HSP 累积量的研究结果显示, 除在热击 6hr 长江下游野生大豆 HSP 累积量略低于松花江下游野生大豆, 其它热击时间, 前者的累积量均高于后者。这可能与这两种野生大豆耐热性的差异有关。关于 HSP 与耐热性的关系, 前人研究结果认为, HSP 的生物体为适应外界环境, 保护自身免受伤害而产生的保护性蛋白, 高分子量 HSP 在细胞中主要起结构作用, 增强细胞对逆境的耐受能力, 低分子量 HSP 主要起调控作用。有关这方面的问题还有待于进一步的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 尹田夫等, 1996, 大豆科学, 15(3): 208- 212
- [2] 王萍等, 1994, 大豆科学, 13(2): 171- 176
- [3] 宋海星等, 1995, 大豆科学, 14(1): 7- 12
- [4] 刘德立等, 1991, 华中师范大学学报 (自然科学版), 25(3): 329- 334
- [5] 梅尚筠等, 1988, 华中师范大学学报 (自然科学版), 专辑第 1 期: 169- 174
- [6] Tissieres, A. et al., 1974, J. Mol. Biol., 84 389
- [7] Ashburner, M. et al., 1979, Cell, 17 241- 254
- [8] Marmiroil, N. et al., 1986, Genet. Agerar, 40 9- 25
- [9] Key, J L. et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 3526- 3530
- [10] Bouchard, E. A., 1990, Genome, 33 68- 79

## THE STUDY ON HEAT SHOCK PROTEIN ( HSP ) OF WILD SOYBEAN ( *Glycine soja* )

II . Comparative Study on HSP Induced Synthesis of Wild Soybean  
( *Glycine soja* ) from the Lower Reaches of the Songhua River and the Yangtze River

Tao Dan Yin Tianfu Wang Ping Song Haixing  
Ma Shuying Li Jiping Zhang Rantang

( *University of Agricultural and Animal Sciences of PLA, Changchun 130062* )

### Abstract

The seedlings of wild soybean ( *Glycine soja* ) "01- 32" from the lower reaches of the Songhua River and "20122" from the lower reaches of the Yangtze River under 40°C for 2, 4, 6, 8 and 10hr for analysing the kinds and the accumulation of Heat Shock Protein ( HSP ). The results indicated that the kinds of HSP of wild soybean from the lower reaches of the Yangtze River was more than that of wild soybean from the lower reaches of the Songhua River, besides of the result of 2hr. The accumulation of HSP of wild soybean from the lower reaches of the Yangtze River was a little lower than that of wild soybean from the lower reaches of the Songhua River under 40°C for 6hr, but for other heat shock time, the accumulations of HSP of the former were obviously higher than that of the latter.

**Key words** Wild Soybean ( *Glycine soja* ); HSP; Induced synthesis