文章编号:1674-7054(2021)02-0210-09



在干旱胁迫下有性四倍体木薯叶片的蛋白质组学研究

邓雅洁,刘云豪,孙 琪,邱 越,宋家明,赖杭桂 (海南大学热带作物学院,海口,570228)

摘 要:为了研究木薯(Manihot esculenta Crantz)有性四倍体的抗旱性,笔者以木薯有性四倍体为供试材料, 其母本华南5号(SC5)为对照材料,通过比较在干旱胁迫下木薯的叶片形态和叶片中丙二醛含量、游离脯氨 酸含量、超氧化物歧化酶活性等生理生化指标,发现有性四倍体较SC5具有更强的抗旱性。对供试木薯材料 进行干旱处理后,将其叶片进行蛋白质双向电泳,通过Delta2D软件分析,筛选出34个表达量符合平均差异 表达量要求的差异蛋白点,包括18个上调表达,16个下调表达;上述差异蛋白质点经质谱分析、NCBI数据库 比对,发现其中有29个蛋白质与之相匹配,包含光合作用相关蛋白质、无机离子转运与代谢相关蛋白质、碳 水化合物和能量代谢相关蛋白质、结合蛋白、解毒和抗氧化相关蛋白质等;核酮糖二磷酸羧化酶和光系统 II(PSII)放氧增强蛋白1为响应干旱胁迫,表达量均上调,因此,推测木薯有性四倍体材料更能在干旱胁迫下 通过有效地维持光合系统的正常结构和功能来迅速适应干旱胁迫。

关键词:木薯;有性四倍体;叶片;抗旱性;蛋白质组学

中图分类号: Q 946.1 文献标志码: A

引用格式:邓雅洁,刘云豪,孙琪,等.在干旱胁迫下有性四倍体木薯叶片的蛋白质组学研究 [J]. 热带生物学报, 2021, 12(2): 210-218. DOI: 10.15886/j.cnki.rdswxb.2021.02.010

木薯 (Manihot esculenta Crantz) 属大戟科(Euphorbiaceae)木薯属(Manihot),与马铃薯、甘薯并称为 世界三大薯类^[1]。木薯从十九世纪初引入中国,广泛种植于我国华南地区,现在已逐步发展到我国华东、 华中、西南地区的多个省市^[2]。木薯除了是主要的粮食作物,还可以作为经济及能源作物生产动物饲料、 淀粉以及酒精等^[3-5]。随着木薯产业发展不断壮大,木薯的育种目标不再单纯地只为满足产量和品质上 的基本要求,还需提升品种的抗逆性,并且已经有专家发现多倍化可以增加木薯抗逆性^[6-7]。木薯由于基 因组高度杂合,使得后代出现严重的性状分离,且木薯有 12 个月的种植周期,这就导致木薯通过传统育 种进行育种改良的过程漫长并具有挑战性^[8],而多倍体育种可以缩短木薯的育种周期,故被广泛应用于木 薯育种工作。多倍体具抗逆性强等优点,可以满足目前抗逆性品种选育的育种目标^[9]。前人多通过体细 胞染色体加倍获得木薯无性四倍体,关于木薯有性多倍化的报道较少。近年来,有育种专家发现通过 2 n 配子诱导木薯有性多倍化可以使木薯同源染色体之间发生高频率重组,从而让亲本的优良基因发生间 渗,达到优良品种选育的目的^[10-11]。关于木薯的有性多倍化研究从 2010 年才开始,LAIH 等^[12]观察了木 薯大孢子发生、雌配子体发育过程各时期与花序、雌花及子房的形态变异,并通过种间杂交得到首例木薯有 性四倍体植株。

使用二维电泳 (2-DE) 和质谱 (MS), 通常可以在给定的组织或细胞样品中可视化, 定量和鉴定成百上 千种蛋白质, 蛋白质组分析也越来越多地用于功能性植物研究中^[13]。蛋白质水平分析有可能为植物对蛋

收稿日期: 2020-11-06 修回日期: 2021-01-27

基金项目: 国家自然科学基金地区基金(31760408);海南大学热带农林学院作物学学科研究生创新课题 (ZWCX2018027);海南省普通高等学校研究生创新科研课题(Hys2018—12; Hys2019—146;)

第一作者:邓雅洁(1996-),女,海南大学热带作物学院 2018 级硕士研究生. E-mail: 869467696@qq.com

通信作者:赖杭桂(1964-),男,博士,教授.研究方向:作物种质资源创新. E-mail: laihanggui8938@163.com

白质的胁迫反应提供广阔的视野^[14]。一些报道集中于对植物多倍体的蛋白质组学分析,包括香蕉^[15],马 铃薯^[16],棉花^[17],小麦^[18-19]等。由于对木薯有性多倍化的研究较少,所以关于木薯有性四倍体抗旱机制的 研究报道也相对较少。现有研究多从木薯长势形态及各项生理指标来研究木薯的抗旱性,也有科研人员 从基因组的水平研究木薯抗旱性,发现干旱胁迫下木薯出现表达差异的基因,但 YIN 等^[20]的研究结果表 明,蛋白组与基因组在逆境条件下,两者的表达趋势并不完全相同。有性多倍化由于起源于配子加倍,其 倍性的遗传稳定性理论上要优于组织器官加倍的无性多倍化途径,即避免了混倍嵌合体现象。本研究在 本课题组研究木薯有性四倍体后代株系且基本明确其具备遗传稳定性后,将木薯有性四倍体与其母本华 南5号作为供试材料,初步观察了供试材料株系在干旱胁迫下长势、叶片形态等生长特性,并通过系统鉴 定干旱胁迫下木薯叶片差异表达蛋白、研究与有性四倍体叶片抗旱机制相关的代谢通路,旨在为木薯抗 旱性种质资源开发提供科研依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料 本实验以有性四倍体木薯和华南 5 号(SC5)木薯为供试材料,对照材料为木薯华南 5 号。中国热带农科院品资所为本实验提供了供试材料的种质资源,本课题组将其种植于海南大学儋州 校区农科基地 (19°30'N,109°28'E)培养。木薯有性四倍体通过华南 5 号(母本)和华南 10 号(父本)有性 杂交产生。

1.2 干旱胁迫处理设计 本试验于 2017 年在海南大学儋州校区农学院温室大棚进行。供试材料采用 无性系扦插-盆栽营养土方式进行种植培养,选用的花盆规格为高 15 cm, 口径 22 cm, 用于扦插的种茎要 求长度在 15 cm 左右。待植株长到 45 cm 左右, 对其中长势一致的木薯进行干旱处理。干旱胁迫处理: 设置 5, 10, 15 d 干旱时间处理梯度; 对照为正常浇水, 每处理 3 次重复。

1.3 测定项目及方法 经干旱梯度处理下的供试木薯材料,择其第四片功能叶,叶片除中脉以外部分剪成大小均一的碎叶,对其进行各项生理指标测定。采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定丙二醛含量,具体操作参照李合生^[21]的方法;游离脯氨酸的测定采用磺基水杨酸提取法、茚三酮显色法,具体操作参照 《植物生理生化实验原理和技术》^[22];采用超氧化物歧化酶活性测定试剂盒测定 SOD 酶活性。

1.4 提取、分离及鉴定干旱处理下的木薯叶片全蛋白质 采用苯酚提取法^[23]提取木薯叶片全蛋白质, 使用 Bradford 试剂盒对溶解的蛋白质定量,再采用双向电泳^[23] 对其分离,3 次重复。使用 Delta2D 软件 对照华南 5 号叶片全蛋白质图谱分析确定有性四倍体木薯叶片的差异蛋白质点,筛选并标记出表达量符 合平均差异表达量在±2.0 以上要求的蛋白质^[24]。鉴定蛋白质参照 AN F 等^[13] 的操作。

1.5 构建木薯干旱胁迫下叶片差异蛋白质互作网络本研究对鉴定出的抗旱性相关的差异蛋白质使用 String 分析软件构建蛋白质互作网络(PPI)^[25]。

1.6 数据处理 本研究的所有数据均先使用 Excel 2013 软件处理, 后经过 SPSS 软件对处理后的数据进行统计学分析, 本研究图片均采用 Adobe Photoshop CC 软件处理。

2 结果与分析

2.1 不同干旱处理木薯叶片形态的变化 对供试材料在干旱胁迫 5、10、15 d 时的叶片形态进行拍照, 以便于观察不同干旱处理程度下木薯有性四倍体和华南 5 号叶片的变化。由图 1 所示,随着干旱胁迫程 度的加深,植株生长日渐缓慢甚至趋于停止,叶片也呈现出自下而上干枯脱落的状态。然而在同一干旱 处理程度下,有性四倍体植株长势比华南 5 号好,叶片枯萎较 SC5 缓慢,能更好地适应干旱胁迫。

2.2 不同干旱处理木薯叶片丙二醛含量、游离脯氨酸含量、超氧化物歧化酶活性变化 木薯叶片丙二 醛含量在不同干旱处理的变化如图 2 所示,在干旱协迫下华南 5 号叶片中丙二醛含量极显著地(P<0.01) 高于有性四倍体叶片的。有性四倍体与华南 5 号叶片中丙二醛含量随着干旱胁迫程度加深均呈上升趋势,华南 5 号上升趋势更显著。由上可知,有性四倍体的内膜系统比华南 5 号能够更迅速有效地响应干



图 1 SC5 和有性四倍体干旱胁迫 0~15 d 的形态变化 左: 有性四倍体; 右: SC5

Fig. 1 Morphological changes of cassava SC5 and its sexual tetraploid after 0-15 d of drought stress Left: Sexual tetraploid; Right: SC5

旱胁迫,作出防御来减轻干旱对植株造成的伤害。

木薯叶片脯氨酸含量在不同干旱处理下的变 化如图 3 所示, 经干旱处理后, 供试材料叶片中脯 氨酸含量均增加, 说明叶片中均通过积累脯氨酸来 应对外界不良环境, 并且有性四倍体叶片中含量增 加更显著, 随着干旱处理程度加深, 华南 5 号叶片 中脯氨酸含量持续积累, 有性四倍体叶片中脯氨酸 含量呈先上升后下降趋势。因此, 推测在干旱处理 5~10 d 时, 有性四倍体比华南 5 号更能迅速地积 累更多的脯氨酸进行渗透调节, 有效地响应干旱胁 迫; 在干旱处理 15 d 时, 有性四倍体已经在前期通 过渗透调节适应干旱胁迫, 而华南 5 号因为前期脯 氨酸含量积累少不足以较快适应干旱胁迫。

木薯叶片 SOD 活性在不同干旱处理下的变化 如图 4 所示,在干旱处理下,有性四倍体叶片中



图 3 干旱胁迫下木薯有性四倍体和 SC5 叶片中脯氨酸含 量的变化

Fig. 3 Changes of the leaf content of proline in cassava sexual tetraploid and SC5 under drought stress



图 2 干旱胁迫下木薯有性四倍体和 SC5 叶片中 MDA 含量的变化

不同字母表示组间差异显著,大写字母表示差异性显著 (P<0.01),小写字母表示差异显著(P<0.05),下同。

Fig. 2 Changes of the leaf content of MDA in cassava sexual tetraploid and SC5 under drought stress

Different letters represent significant differences between groups, with capital letters representing significant differences (P<0.01) and lowercase letters representing significant differences (P<0.05), similarly hereinafter.



图 4 干旱胁迫下木薯有性四倍体和 SC5 叶片中 SOD 活性的变化

Fig. 4 Changes of the activity of SOD in the leaves of cassava sexual tetraploid and SC5 under drought stress

SOD 活性极显著地高于华南 5 号(*P* < 0.01),且随着干旱处理时间延长,供试材料叶片中 SOD 活性均呈 先升后降趋势,然而有性四倍体木薯叶片中超氧化物歧化酶活性变化较华南 5 号木薯的更明显。

2.3 干旱处理下木薯叶片的差异蛋白质点 对木薯有性四倍体和华南5号经干旱处理后差异明显植株的叶片全蛋白质进行提取、分离、染色,得到重复性较好的叶片蛋白质双向电泳图谱(图 5A 和 5B)。使用 Delta 2D 软件对照华南5号叶片全蛋白质图谱进行分析,确定有性四倍体木薯叶片的差异蛋白质 点,筛选并标记出 34 个表达量符合平均差异表达量在 2.0 倍^[24] 以上要求的蛋白质点(图 5C),包括 18 个 表达上调的蛋白质,16 个表达下调的蛋白质。将上述蛋白质比对差异蛋白质点的质谱,再联合 NCBI 的 蛋白质数据库分析,发现有 29 个与之相符的差异蛋白质,并对其按作用分类,各蛋白质详细相关信息如 表1 所示。



图 5 干旱胁迫后有性四倍体及 SC5 叶片双向蛋白图谱及其叠加图 A:有性四倍体木薯 B: SC5(对照), C:叠加图; 黑色箭头指示上调表达蛋白质点,白色箭头指示下调蛋白质点

Fig. 5 2-DE proteins images of sexual tetraploid and SC5 cassava's leaf under drought treatment

A: Sexual tetraploid ; B: SC5 (control); C: Overlay image . Black arrows indicate proteins are up-regulated and white arrows indicate proteins down-regulated.

表 1 干旱胁迫后有性四倍体与 SC5 叶片差异蛋白质的统计

Tab. 1	Identification of differentially expressed proteins extracted from the leaves of the
	sexual tetraploid and SC5 after drought stress

				理论等电点/	差异量
蛋白作用	序号	功能	序列号	分子量	(均值标准差)
类别	No.	Function	Gi number	Theoretical	Fold changes
				<i>pI</i> /Mw	(Mean±SE)
		Photosystem II oxygen-evolving enhancer			
	22	protein 1 (psbO) 光系统 Ⅱ (PS Ⅱ)放氧增强蛋	Manes.12G097200.1.p	5.57/35.40	2.451±0.12 (+)
		白1(psbO)			
	4	Ribulose-bisphosphate carboxylase large chain	Manes.S113700.1.p	8.36/37.03	3.993±0.21 (+)
		(rbcL)核酮糖二磷酸羧化酶大链(rbcL)			
		Light-harvesting complex II chlorophyll a/b			
	27	binding protein 1 (LHCB1) 捕光复合物 Ⅱ 叶绿	Manes.17G066700.1.p	5.09/28.16	$\infty + \infty$
Photo-synthesis		素a/b结合蛋白1(LHCB1)			
related proteins		Oxygen-evolving enhancer protein 2-1,			
光合作用 (7)	29	chloroplastic-related	Manes.02G089900.1.p	8.76/28.52	2.347±0.28 (+)
		与叶绿体有关的氧增强蛋白2-1			
		Ribulose bisphosphate carboxylase small chain			
	34	1A, chloroplastic-related 与叶绿体有关的核糖	Manes.01G011500.1.p	8.82/15.24	64.0±0.10 (+)
		二磷酸羧化酶小链1A			
		Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase			
	9	activase, chloroplastic 核酮糖二磷酸羧化酶/	Manes.10G027600.1.p	5.37/52.18	2.0±0.18 (-)
		氧化酶活化酶, 叶绿体			

			uvu		
蛋白作用 类别	序号 No.	功能 Function	序列号 Gi number	理论等电点/ 分子量 Theoretical <i>pl</i> /Mw	差异量 (均值标准差) Fold changes (Mean±SE)
Photo-synthesis related proteins 光合作用 (7)	33	Rlibulose bisphosphate carboxylase small chain 1A, chloroplastic-related 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶小亚基/核酮糖二磷酸羧化酶	Manes.01G011500.1.p	8.82/15.24	-∞
	2	FtsH extracellular protease familyFtsH 胞外蛋白酶家族	Manes.02G089700.1.p	5.33/55.86	
	3	Glycosyl hydrolase 糖基水解酶	Manes.07G027700.1.p	5.16/63.06	9.135±0.32 (+)
	19	Beta-pyrazolylalanine synthase / Pyrazolylalaninase β-吡唑丙氨酸合酶/吡唑啉 丙氨酸酶	Manes.09G157100.1.p	5.53/34.26	2.128±0.28 (+)
	28	Glutathione S-transferase TAU 19谷胱甘肽S- 转移酶TAU 19	Manes.15G101100.1.p	6.79/25.37	$\infty +$
Carbohydrate and energy	26	Triose-phosphate isomerase / Triosephosphate mutase 丙糖磷酸异构酶/磷酸丙糖变位酶	Manes.07G116700.1.p	6.29/27.63	$\infty +$
metabolism associated	11	Monodehydroascorbate reductase 单脱氢异硬脂酸还原酶	Manes.09G058800.1.p	5.20/41.18	3.0±0.24 (-)
proteins 碳水化 合物和能量代谢	15	chloroplastic/mitochondrial 公氛融腔合成酶 吐绿体/线粒体	Manes.03G186600.1.p	5.50/40.80	2.0±0.29 (-)
相关蛋白 (12)	17	Succinyl-CoA synthetase beta subunit (LSC2)琥珀酰辅酶A合成酶β亚基(LSC2)	Manes.13G037000.1.p	5.45/42.08	5.0±0.43(-)
	13	Acyl-Acyl-CARRcarrier-rortein desAturase-	Manes.11G128500.1.p	6.05/48.01	3.0±0.25 (-)
	18	Carbonic anhydrase 2, chloroplastic-related 与叶绿体相关的碳酸酐酶2	Manes.15G167500.1.p	6.44/32.52	2.0±0.23 (-)
	23	Phosphoglycolate phosphatase (PGP, PGLP) 磷酸甘油磷酸酯酶(PGP, PGLP)	Manes.13G001100.1.p	6.32/32.12	2.0±0.34 (-)
	24	Triose-phosphate isomerase / Triosephosphate mutase 丙糖磷酸异构酶/磷酸丙糖变位酶	Manes.02G132800.1.p	6.48/27.60	2.0±0.11 (-)
Chaperones proteins 伴侣蛋白 (2)	1	Heat shock 70 KDA protein 10, mitochondrial 70 KDA 热激蛋白10, (线粒体70 KDA HSP10)	Manes.07G046700.1.p	5.45/71.82	4.604±0.09 (+)
	6	Chaperonin 60 subunit beta 1, chloroplastic- related 与叶绿体相关的伴侣蛋白60亚单位1	Manes.15G110300.1.p	5.42/64.74	3.0±0.52 (-)
Structure 结构蛋白 (1)	14	Actin 肌动蛋白	Manes.12G150500.1.p	5.16/41.90	2.0±0.34 (-)
Detoxifying and antioxidant 解毒 <u>和抗氧化蛋白 (1)</u>	12	Peroxidase 2 过氧化物酶2	Manes.15G104300.1.p	6.50/37.83	3.184±0.51 (+)
DNA/RNA binging proteins DNA/RNA 结合 蛋白 (1)	31	Nucleic acid-binding, OB-fold-like protein 核酸结合, ob折叠蛋白	Manes.02G024200.1.p	4.41/16.93	3.991±0.13 (+)
Inorgania ion	5	Calcium-activated chloride channel regulator 钙激活氯离子通道调节器	Manes.08G075100.1.p	4.72/51.06	6.0±020(-)
transport and metabolism 无机离子转运与	8	V-type H+-transporting ATPase subunit B (ATPeV1B, ATP6B) V型H+- 转运ATP酶亚基B (ATPeV1B, ATP6B) E-type UL transporting ATPase subunit d	Manes.05G143200.1.p	4.62/54.47	5.444±0.05 (+)
代谢 (3)	32	F-type H+-transporting ATPase subunit d (ATPeF0D, ATP5H, ATP7) F型H ⁺ -	Manes.07G102500.1.p	4.99/16.53	6.863±0.18(+)
Defense 保护蛋白 (1)	25	我运AIP時业並u (AIPCPUD, AIPCH, AIP/) Hydroxynitrile lyase / Oxynitrilase 羟基腈裂合酶/腈水解酶	Manes.13G092100.1.p	6.42/29.52	2.705±0.06 (+)
Function unknown proteins 功能未知蛋白 (1)	10	Polyadenylate-binding protein	Manes.15G072700.1.p	5.46/45.14	2.0±0.28 (-)

续表1 Tab.1 continued

2.4 木薯干旱胁迫下叶片差异蛋白质互作调控网络的构建 差异蛋白质点互作网络如图 6 所示,有 13 个蛋白质节点、31 种蛋白质互作关系存在于差异蛋白质互作网络中。各差异表达蛋白质间通过多条 通路进行调节,其线条的粗细代表蛋白质相互作用的强弱,其中 GS2 蛋白质点相互作用较强,且调节通路 多达 9 条; RCA 蛋白质点含有 7 种互作关系; RBCS3B、PSBP-1 及 PSBO2 蛋白质均包括 6 种互作关系; TPI、CA1 和 RBCL 蛋白质有 5 种互作关系。



图 6 基于 String 软件构建的木薯叶片差异蛋白质-蛋白质互相作用网络(PPI) 不同颜色圆圈表示有不同生物学功能的蛋白质;两蛋白质点由线条连接表示其相互作用,线条粗细表示两者之间相互 作用的强弱;黑色箭头代表表达上调;白色箭头代表表达下调.

Fig. 6 Cassava Leaf Different Protein-Protein Interacting (PPI) Network Based on String Software

Different color circles represent proteins with different biological functions; Two protein points are represented by line connections, and line weight indicates the strengh of the interaction between the two; black arrows represents upward expression, White arrows represents downward expression.

3 讨 论

植物多倍体诱导会使其花、果实、叶片等器官增大,且对于逆境的抗性能力也会增强,如小麦^[26]、玉米^[27]、棉花^[28]等植物的多倍体类型均具有比未加倍材料更强的抗逆性。并且,以往的研究表明^[7],木薯多倍体植株的解剖学改变,在薄壁组织细胞的密度、压实度和厚度上存在差异,可使四倍体植株具有较高的耐旱性。四倍体中大量的容器群也可比二倍体中较少的容器群保持更多的水分^[7,29]。丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量以及超氧化物歧化酶(SOD)活性是评价植物抗旱性的重要生理代谢变化指标,其中丙二醛(MDA)是脂质过氧化的产物,已作为测量氧化损伤的指标被广泛应用^[30-32]。其含量变化间接反映出植物的抗逆性,在相同水分胁迫下 MDA 含量的增幅差异,说明品种间确实存在抗旱性差别,丙二醛(MDA)含量增幅越少的品种抗旱性越强。本研究结果发现经干旱处理后华南 5 号叶片中丙二醛增量极显著地高于有性四倍体。植物经干旱处理后,其叶片中通过迅速积累脯氨酸进行渗透调节细胞含水量来提高植物的抗旱性^[33-35]。据本研究结果推测:在干旱处理 5 ~ 10 d 时,木薯有性四倍体比华南 5 号更迅速地积累更多的脯氨酸进行渗透调节,有效地响应干旱胁迫;在干旱处理 15 d 时,有性四倍体已经在前期通过渗透调节适应干旱胁迫。超氧化物歧化酶(SOD)是维持细胞膜的稳定性的抗氧化酶,较高的SOD活性值能减轻膜脂过氧化对植物造成的伤害^[36]。本研究结果显示有性四倍体叶片中 SOD 活性极显著地高于华南 5 号。上述生理指标数据都说明木薯有性四倍体的抗旱能力更强。

多倍体诱导对蛋白质组影响被认为是显著的,在干旱逆境过程木薯的蛋白质表达量发生变化以适应 干旱环境。本研究基于 String 数据库构建有性四倍体木薯叶片差异蛋白质互作网络,发现光合作用类蛋 白质 GS2 相互作用较强,且调节通路最多。 在高等植物中核酮糖二磷酸羧化酶是由 8 个大亚基和 8 个小亚基组成的,其催化和活化部位都位于 大亚基上,而小亚基与活性无关^[37]。由于该酶能够调节光合作用的碳同化速率,所以其活性高低是影响 植物的净光合产量的直接因素^[36,38-39]。干旱胁迫会使酶活性降低,导致碳同化速率降低,从而影响光合 速率,其表达量随干旱程度加深而增加,进而减少干旱胁迫对植物造成的危害^[40-42]。PARKER 等^[43] 指出 耐旱性向日葵在干旱胁迫下,叶片中 Rubisco 含量高于正常环境下的含量,这是一种植物对干旱环境的适 应性反应,也显示出该植物较强的抗旱能力。本研究结果显示,干旱条件下木薯有性四倍体叶片中 Rubisco 的表达量上调,因此,推测有性四倍体木薯在干旱条件下能更迅速地表现出适应性反应,以减少 干旱环境对木薯造成的危害。

放氧增强蛋白是一种叶绿体蛋白,位于光系统 II (PS II)的边缘,与放氧关系最密切^[44]。放氧增强蛋白包括放氧增强蛋白1、放氧增强蛋白2、放氧增强蛋白3,其中放氧增强蛋白1、放氧增强蛋白2是影响氧释放活力的重要影响因子^[45]。放氧增强蛋白1通过作用于植物光合作用中氧气释放的过程来保证光合系统结构正常。有研究表明放氧增强蛋白是植物遭受逆境胁迫时光合相关蛋白的降解产物^[45]。本研究木薯叶片的差异蛋白质结果显示,放氧增强蛋白1在干旱条件下表达量上调。因此,推测有性四倍体木薯在干旱胁迫中对放氧增强蛋白1及其前体诱导程度更容易,诱导量也更多,更能快速有效地维持光合系统的稳定。

参考文献:

- [1] 罗兴录, 黄小凤, 吴美艳, 等. 5个木薯品种生理特性与主要农艺性状的研究[J]. 作物杂志, 2020(5): 182-187.
- [2] 罗兴录, 潘晓璐, 朱艳梅. 木薯内源 ABA 含量与块根淀粉积累关系研究[J]. 热带作物学报, 2018, 39(3): 472-479.
- [3] TOMLINSON K R, BAILEY A M, ALICAI T, et al. Cassava brown streak disease: historical timeline, current knowledge and future prospects [J]. Molecular Plant Pathology, 2018, 19(5): 1282 – 1294.
- [4] SHEFFIELD J, TAYLOR N, FAUQUET C, et al. The cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root proteome: protein identification and differential expression [J]. Proteomics, 2010, 6(5): 1588 – 1598.
- [5] NACONSIE M, LERTPANYASAMPATHA M, VIBOONJUN U, et al. Cassava root membrane proteome reveals activities during storage root maturation [J]. Journal of Plant Research, 2016, 129(1): 51 – 65.
- [6] EL-SHARKAWY M A. Cassava biology and physiology [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 56(4): 481 501.
- [7] NASSAR N M A, GRACIANO-RIBEIRO D, FERNANDES S D C, et al. Anatomical alterations due to polyploidy in cassava, *Manihot esculenta* Crantz [J]. Genetics and Molecular Research, 2008, 7(2): 276 – 283.
- [8] BREDESON J V, LYONS J B, PROCHNIK S E, et al. Sequencing wild and cultivated cassava and related species reveals extensive interspecific hybridization and genetic diversity [J]. Nature Biotechnology, 2016, 34(5): 562 – 570.
- [9] 赖杭桂, 庄南生. 木薯多倍体育种研究进展[J]. 热带生物学报, 2010, 1(4): 380 385.
- [10] BARBA-GONZALEZ R, LIM K B, RAMANNA M S, et al. Use of 2n gametes for inducing intergenomic recombination in lily hybrids [J]. Acta Horticulturae, 2005(673): 161 – 166.
- [11] LIM K B, RAMANNA M S, VAN TUYL J M. Homoeologus recombination in interspecific hybrids of Lilium [J]. Korean Journal of Breeding, 2003, 35(1): 8 – 12.
- [12] LAI H, CHEN X, CHEN Z, et al. Induction of female 2n gametes and creation of tetraploids through sexual hybridization in cassava (*Manihot esculenta*) [J]. Euphytica, 2015, 201(2): 265 273.
- [13] AN F, FAN J, LI J, et al. Comparison of leaf proteomes of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar NZ199 diploid and autotetraploid genotypes [J]. Plos One, 2014, 9(4): e85991.
- [14] LEHESRANTA S J, DAVIES H V, SHEPHERD L V T, et al. Comparison of tuber proteomes of potato varieties, landraces, and genetically modified lines [J]. Plant Physiology, 2005, 138(3): 1690 – 1699.
- [15] CARPENTIER S, PANIS B, RENAUT J, et al. The use of 2D-electrophoresis and *de novo* sequencing to characterize interand intra-cultivar protein polymorphisms in an allopolyploid crop [J]. Phytochemistry, 2011, 72(10): 1243 – 1250.
- [16] HOEHENWARTER W, LARHLIMI A, HUMMEL J, et al. MAPA distinguishes genotype-specific variability of highly similar regulatory protein isoforms in potato tuber [J]. Journal of Proteome Research, 2011, 10(7): 2979 – 2991.
- [17] HU G, KOH J, YOO M, et al. Gene-expression novelty in allopolyploid cotton: A proteomic perspective [J]. Genetics, 2015, 200(1): 91 – 104.
- [18] AMIOUR N, MERLINO M, LEROY P, et al. Chromosome mapping and identification of amphiphilic proteins of hexaploid

wheat kernels [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 108(1): 62 – 72.

- [19] MERLINO M, LEROY P, CHAMBON C, et al. Mapping and proteomic analysis of albumin and globulin proteins in hexaploid wheat kernels (*Triticum aestivum* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(7): 1321 – 1337.
- [20] YIN Z K, STEAD D, WALKER J, et al. A proteomic analysis of the salt, cadmium and peroxide stress responses in Candida albicans and the role of the Hog1 stress-activated MAPK in regulating the stress-induced proteome. [J]. Proteomics, 2009, 9(20): 4686.
- [21] 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.
- [22] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京, 高等教育出版社, 2006.
- [23] CHEN S, GLAZER I, GOLLOP N, et al. Proteomic analysis of the entomopathogenic nematode Steinernema feltiae IS-6 IJs under evaporative and osmotic stresses. [J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 2006, 145(2): 195 – 204.
- [24] 安飞飞,凡杰,李庚虎,等.华南8号木薯及其四倍体诱导株系叶片蛋白质组及叶绿素荧光差异分析[J].中国农业科学,2013,46(19):3978-3987.
- [25] KHAN S, AHMAD K, ALSHAMMARI E M A, et al. Implication of caspase-3 as a common therapeut target for multineurodegenerative disorders and its inhibition using nonpeptidyl natural compounds [J]. BioMed Res Int, 2015, 175(2): 235 – 244.
- [26] YANG C, ZHAO L, ZHANG H, et al. Evolution of physiological responses to salt stress in hexaploid wheat [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(32): 11882 – 11887.
- [27] COATE J E, POWELL A F, OWENS T G, et al. Transgressive physiological and transcriptomic responses to light stress in allopolyploid *Glycine dolichocarpa* (Leguminosae) [J]. Heredity, 2013, 110(2): 160 – 170.
- [28] DENG B, DU W, LIU C, et al. Antioxidant response to drought, cold and nutrient stress in two ploidy levels of tobacco plants: low resource requirement confers polytolerance in polyploids? [J]. Plant Growth Regulation, 2012, 66(1): 37 47.
- [29] PHLUP T, GOVLNDALAH, SENGUPTA K, et al. Anatomical nature of resistance in mulberry genotypes against Cerotelium lid causing leaf rust [J]. Indian Phytopathology, 1991, 44(2): 249 – 251.
- [30] SHAN Z Y, LUO X L, WEI M G, et al. Physiological and proteomic analysis on long-term drought resistance of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 17982.
- [31] GONG D H, WANG G Z, SI W T, et al. Effects of salt stress on photosynthetic pigments and activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in *Kalidium foliatum* [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2018, 65(1): 98 – 103.
- [32] GUETADAHAN Y, YANIV Z, ZILINSKAS B A, et al. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in *Citrus* [J]. Planta, 1997, 203(4): 460 – 469.
- [33] KHOYERDI F F, SHAMSHIRI M H, ESTAJI A, et al. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress [J]. Scientia Horticulturae, 2016, 198: 44 – 51.
- [34] CARDOSO M N, APARECIDA GOMES DE ARAÚJO, OLIVEIRA L A R, et al. Proline synthesis and physiological response of cassava genotypes under in vitro salinity [J]. Ciência Rural, 2019, 49(6): e20170715.
- [35] 刘维俊, 徐立新, 何美丹, 等. 干旱胁迫下山栏稻与栽培水稻品种苗期表型性状及生理差异[J]. 热带生物学报, 2014, 5(3): 260-264.
- [36] PARRY M A, ANDRALOJC P J, SCALES J C, et al. Rubisco activity and regulation as targets for crop improvement [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(3): 717 730.
- [37] KUREPA J, SMALLE J A. Oxidative stress-induced formation of covalently linked ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit dimer in tobacco plants [J]. BMC Research Notes, 2019, 12(1): 112.
- [38] LI J, YOKOSHO K, LIAO H, et al. Diel magnesium fluctuations in chloroplasts contribute to photosynthesis in rice [J]. Nature Plants, 2020, 6(7): 1 – 12.
- [39] LONG S P, MARSHALLCOLON A, ZHU X, et al. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential [J]. Cell, 2015, 161(1): 56 – 66.
- [40] VINCENT D, ERGUL A, BOHLMAN M C, et al. Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity [J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(7): 1873 – 1892.
- [41] PANKOVIC D, SAKAC Z, KEVRESAN S, et al. Acclimation to long-term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids: photosynthesis, electron transport and carbon metabolism [J]. Journal of Experimental Botany, 1999, 50: 127 – 138.
- [42] TEZARA W, MITCHELL V J, DRISCOLL S D, et al. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP [J]. Nature, 1999, 401: 914 – 917.
- [43] PARKER R, FLOWERS T J, MOORE A L, et al. An accurate and reproducible method for proteome profiling of the effects of salt stress in the rice leaf lamina [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(5): 1109 1118.
- [44] WASSIM A, ICHRAK B R, SAIDA A, et al. Putative role of proteins involved in detoxification of reactive oxygen species

in the early response to gravitropic stimulation of poplar stems [J]. Plant Signaling & Behavior, 2013, 8(1): e22411.

[45] DOWNTON W J, LOVEYS B R, GRANT W J, et al. Non-uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non-stomatal inhibition of photosynthesis [J]. New Phytologist, 1988, 110(4): 503 – 509.

Proteomics of the Leaves of Sexual Polyploid Cassava under Drought Stress

DENG Yajie, LIU Yunhao, SUN Qi, QIU Yue, SONG Jiaming, LAI Hanggui (College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: An attempt was made to analyze the drought resistance of sexual tetraploid cassava. Sexual tetraploid cassava was treated under different levels of drought with its maternal parent as control, and their leaves were sampled and analyzed in terms of leaf morphology, physiology, biochemistry and proteomics. Comparison of the leaf morphology and leaf physiological and biochemical indicators such as the contents of MDA and proline and SOD activity showed that the sexual tetraploid cassava had higher drought resistance than the cassava SC5. The leaves of cassava SC5 and its sexual tetraploid plants under drought stress were run on twodimensional protein electrophoresis and analyzed by using Delta 2D software., and 34 protein spots with an average differential expression of at least 2.0 fold change in expression were obtained from the leaves under drought stress, of which 18 were up-regulated and 16 down-regulated. The different protein spots were analyzed by using mass spectrometry and matched to the NCBI database, and 29 protein spots were matched to the NCBI database entries. These 29 proteins are mainly related to photosynthesis, inorganic ion transport and metabolism, carbohydrate and metabolism, binding, detoxification and antioxidants, etc. Moreover, the ribulose bishosphate carboxylase and the oxygen-evolving enhancer protein 1 of the Photosystem II (PSII) in response to drought stress were up-regulated in expression, which implies that the sexual tetraploid cassava is more effective than the SC5 in maintaining the normal structure and function of the photosynthesis system, and hence respond more quickly to drought stress.

Keywords: cassava; sexual tetraploid; leaves; drought resistance; proteomics

(责任编委:罗启香 责任编辑:叶 静)