

# 在盐胁迫下获得的大豆愈伤组织 及再生植株的生化反应\*

陈云昭 王玉国

(山西农业大学)

## 提 要

在含 NaCl 的选择培养基中获得的大豆小真叶愈伤组织及再生植株的过氧化物酶活性增高,蛋白质含量降低,愈伤组织中的脯氨酸含量随 NaCl 浓度增高而急剧上升。在盐胁迫下过氧化物酶活性和脯氨酸含量增高,蛋白质含量降低是对盐胁迫的生理适应。

**关键词** 盐胁迫;过氧化物酶;蛋白质;脯氨酸

目前,利用组织培养研究植物耐盐机理已有不少报道,但大豆愈伤组织及再生植株的耐盐生理研究尚未见报道。我们在大豆小真叶外植体一步培养获得再生植株成功的基础上,于1987年开始进行大豆耐盐离体筛选试验,1988~1989年间对在不同 NaCl 浓度胁迫下得到的愈伤组织及再生植株研究了过氧化物酶活性,蛋白质和脯氨酸含量的变化。

## 材 料 和 方 法

大豆(*Glycine max*)品种“晋豆1号”的种子在湿砂中萌发,取未伸出子叶的小真叶,经消毒后切割成直径2mm的小块,直接接种到盐胁迫培养基上。以适宜诱导大豆小真叶外植体一步培养获得再生植株的培养基(B<sub>5</sub>+KT 1.0mg/L+NAA 0.2mg/L)<sup>[1]</sup>为对照,盐胁迫培养基为对照培养基中每升分别加1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0g NaCl。培养物在变温(25℃/18℃)条件下培养,白天补充光照10小时,光照度为3000lux。取培养20~24天,颜色较一致的愈伤组织,株高约2~4cm的再生植株茎叶分别进行测定,重复三次,取平

\* 本工作受山西省自然科学基金资助。

本文于1990年7月17日收到。

This paper was received on July 17, 1990.

均值。

过氧化物酶活性测定参照华东师范大学的方法<sup>[2]</sup>。愈伤组织及再生植株茎叶分别按 1 与 5 之比(即 1 份材料 5 份介质)加入 0.1mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH8.5),充分研磨后,匀浆离心(8000 转/分)15 分钟贮于冰箱中备用。测定时取合适浓度酶液 1ml 加愈创木酚底物反应液 3ml,准确反应 3 分钟,于 751 分光光度计波长 470nm 处记下光密度,酶活性以 OD470/min.ml 表示。蛋白质含量取上述提取液稀释到适当浓度用 Folin 酚法测定。脯氨酸含量采用西北农业大学磺基水杨酸提取法<sup>[3]</sup>测定。

## 结果和讨论

### 1. 盐胁迫与愈伤组织及再生植株的过氧化物酶活性

在盐胁迫下,大豆小真叶愈伤组织及再生植株的过氧化物酶活性都比对照高,除 NaCl0.25% 的以外,有随 NaCl 浓度增高而增强的趋势。再生植株的过氧化物酶活性,对照和各种浓度 NaCl 胁迫下的都比愈伤组织的高(表 1)。

过氧化物酶为植物内源自由基消除剂,属于保护酶系统。盐渍、干旱、低温等许多逆境都能影响植物体内活性氧代谢系统的平衡,增加自由基而使植物遭受伤害<sup>[4,5]</sup>。逆境中植物的过氧化物酶活性增高或保持较高的水平,可能使生物自由基维持在一个低水平,从而防止自由基毒害。试验中在含 NaCl 培养基中的愈伤组织及再生植株过氧化物酶活性提高,显然是对盐胁迫的一种生理适应。

表 1 盐胁迫下大豆小真叶愈伤组织及再生植株过氧化物酶活性的变化

(单位 OD470/min. ml)

Table 1 Changes of peroxidase activity of soybean young true leaf callus tissues and regenerated plantlet induced under salt stress

(Unit: OD470/min. ml)

NaCl 浓度(%) Concentration of NaCl (%)	0.0 对照	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40
愈伤组织 Callus	4.81	5.42	7.13	9.61	7.20	11.55	14.23	16.99
再生植株 Regenerated plantlet	7.41	9.11	13.23	16.47	12.39	23.36	—	—

### 2. 盐胁迫与愈伤组织及再生植株的蛋白质含量

再生植株的蛋白质含量对照和各种 NaCl 浓度下的都比愈伤组织的高。含 NaCl 培养基中的愈伤组织及再生植株的蛋白质含量都比对照低,而且,除 NaCl0.4% 的愈伤组织外,随 NaCl 浓度增高而降低(表 2)。

盐胁迫下植物体内的蛋白质代谢异常,抑制合成提高分解是对植物的不利影响之一<sup>[6,7]</sup>。看来,盐胁迫对离体培养的大豆愈伤组织及再生植株有同样影响。我们曾报道过盐胁迫下大豆愈伤组织的增殖较慢<sup>[8]</sup>,可能与蛋白质含量降低有关。蛋白质合成是器官发生

所必须的<sup>[9]</sup>。因此,再生植株的蛋白质含量无论是对照还是盐胁迫下的都比愈伤组织的高。试验中高 NaCl 浓度下愈伤组织的蛋白质含量又有升高的原因,是否由于产生盐胁迫蛋白,尚待研究。

表2 盐胁迫下大豆小真叶愈伤组织及再生植株蛋白质含量的变化 (单位:mg/ml)

Table 2 Changes of protein content of soybean young true leaf callus tissues and regenerated plantlet induced under salt stress (Unit:mg/ml)

NaCl 浓度(%) Concentration of NaCl (%)	0.0 对照	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40
愈伤组织 Callus	2.46	2.33	2.10	1.82	1.73	1.70	1.66	1.78
再生植株 Regenerated plantlet	3.41	3.38	3.19	3.10	2.47	2.34	—	—

### 3. 盐胁迫与愈伤组织脯氨酸的含量

在含 NaCl 培养基中愈伤组织的脯氨酸含量都比对照高,而且随 NaCl 浓度的增高而急剧上升(表3)。含 NaCl 0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.40% 培养基中愈伤组织的脯氨酸含量分别为对照的 1.07、1.17、1.43、2.09、3.46、4.64、7.45 倍。说明 NaCl 浓度越高愈伤组织中脯氨酸累积越多。这与周荣仁等<sup>[10]</sup>的研究结果是一致的。

表3 盐胁迫下大豆小真叶愈伤组织脯氨酸含量的变化

Table 3 Changes of proline content of soybean young true leaf callus tissues induced under salt stress

NaCl 浓度(%) Concentration of NaCl	0.0 对照	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40
脯氨酸含量 ( $\mu\text{g/g} \cdot \text{DW}$ ) Content of proline	142.0	152.0	166.60	203.15	297.61	490.74	659.09	107.69

盐胁迫的两个基本组成部分是渗透胁迫和离子效应<sup>[11]</sup>。在盐胁迫下脯氨酸的累积可起渗透调节作用,以利愈伤组织吸水维持膨压。Treichel 观察,两种盐生植物合成脯氨酸与渗透胁迫的关系,指出游离脯氨酸的增加与植物组织液中  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  浓度有关<sup>[12]</sup>。本试验中脯氨酸累积与  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  的关系尚在研究中。

植物在盐渍、干旱等逆境下,脯氨酸累积的途径有三:脯氨酸合成加强;脯氨酸氧化作用受抑;蛋白质合成减弱<sup>[13,14]</sup>。试验中,在盐胁迫下的愈伤组织及再生植株,蛋白质含量降低,是其合成减弱,分解加强的必然结果。由于合成减弱,减少了脯氨酸利用的去路;分解加强,增加了脯氨酸的来源。因此,愈伤组织中脯氨酸的累积与其蛋白质含量的降低是相联系的。

总之在盐胁迫下的大豆愈伤组织及再生植株中,过氧化物酶活性增高,蛋白质含量降低,愈伤组织中脯氨酸的累积是对盐胁迫的生理适应。

## 参 考 文 献

- [1] 陈云昭等,1983,大豆外植体培养再生植株的研究,山西农业大学学报(1):41~45
- [2] 华东师范大学植物生理教研组主编,1980,植物生理学实验指导 人民教育出版社
- [3] 西北农业大学植物生理生化教研组编,1987,植物生理学实验指导 陕西科学技术出版社
- [4] 王宝山,1988,生物自由基与植物膜伤害 植物生理学通讯(2):12~16
- [5] 王建华等,1989,超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用 植物生理学通讯(1):1~7
- [6] 江苏农学院主编,1986,植物生理学,农业出版社
- [7] 潘瑞炽、董愚得编,1984,植物生理学(第二版) 高等教育出版社
- [8] 陈云昭,1989,大豆耐盐离体筛选分化再生植株的初步研究 大豆科学(4):339~343
- [9] 刘涿,1983,体外分化研究的进展,植物生理学通讯(5):1~6
- [10] 周荣仁等,1986,利用组织培养选择烟草耐盐愈伤组织变异体并分化出再生植株,实验生物学报(19):279
- [11] 刘友良等,1987,植物耐盐性研究进展,植物生理学通讯(4):1~7
- [12] 周荣仁等,1989,利用组织培养研究植物耐盐机理与筛选耐盐突变体的进展 植物生理学通讯(5):11~19
- [13] 汤章城,1986,植物渗透调节及其遗传工程的研究 植物生理生化进展(4):51~60
- [14] 王洪春,1987,植物抗性生理研究进展,植物生理学专题讲座—纪念罗宗洛教授 320~345

REACTION OF SOYBEAN CALLUS TISSUES AND  
REGENERATED PLANTLET TO SALT STRESS

Chen Yunzhao Wang Yuguo

(Shanxi Agricultural University)

Abstract

The young true leaves of soybean were cultured in the several concentration NaCl medium. After cultured for 20—24 days, the peroxidase active, protien and proline content of callus tissues and 2—4 cm high regenerated plantlet were measured. The results showed that peroxidase activity of callus tissues and regenerated plantlet under salt stress were higher than control. Except NaCl 0.25%, peroxidase activeity of callus tissues and regenerated plantlet increased with the increase of NaCl concentration. But under several salt stress and control, the peroxidase active of regenerated plantlet was higher than that of callus tissues. Protein content of regenerated plantlet was higher than callus tissues under several NaCl concentration and control. Protein content of callus tissues and regenerated plantlet under salt stress was lower than control, and decreased with the increase NaCl concentration, except NaCl 0.4%. The accumulation of proline was higher in callus tissues than in control and rapidly increased with increase of NaCl concentration. The proline accumulation was in relation to the decrease of protein content in callus tissues. Under salt stress, the increase of peroxidase activity, decrease of protein content in callus tissues and regenerated plantlet and proline accumulation in callus tissues, were a physiological adaptation to salt stress.

**Key words** Salt stress; Peroxidase; Protein; Proline