

盐胁迫下大豆初生叶愈伤组织 SOD 活性及其同工酶变化的研究^{*}

魏爱丽 白 桦 陈云昭 冯文新

(山西农业大学农学系 太谷 030801)

摘 要

以大豆初生叶 (Primary leaves) 愈伤组织作为材料, 分别于含 0% (对照)、0.4%、0.8%、1.2%、1.6% NaCl 浓度的培养基中进行 24、48、72 小时短时间培养和 16、20、24 天长时间培养, 研究了不同盐度及不同培养时间内 SOD 活性及其同工酶的变化。结果表明: 短时间培养时, 随着盐度的升高和时间的延长, SOD 活性增强; 长时间培养时, 盐浓度越高, 胁迫时间越长, SOD 活性越低, 其同工酶也表现出规律性的变化。

关键词 盐胁迫; 大豆; 愈伤组织; SOD; 同工酶

近年来, 利用植物组织和细胞培养技术进行耐盐机理的研究已取得了很大进展。盐胁迫蛋白的发现, 许多植物如大豆^[1]、烟草^[2]等耐盐植株或耐盐细胞品系的获得, 开辟了耐盐机理研究的新领域。Mocord^[7]在 1969 年第一次从牛红细胞中发现 SOD, 并证明其功能是清除超氧阴离子自由基, 在防止细胞膜伤害方面起着重要作用。目前, 分析此酶活性变化与抗盐性之间关系的报道甚多^[3, 4, 5]。但有关大豆愈伤组织在盐胁迫下 SOD 活性及其同工酶与抗性之间关系的报道甚少。本试验即采用盐胁迫下大豆初生叶愈伤组织为材料, 对其 SOD 活性及其同工酶进行研究, 为大豆抗盐性提供一定理论依据。

材料与方 法

将本校大豆科研组提供的大豆“晋豆 1 号”品种种子于湿沙中在 25℃ 下萌发, 取其未伸展子叶的初生叶, 切成 2mm² 小块, 接种于 B₆+ 2mg NAA/L+ 2mg KT/L 的琼脂培养基上, 初生叶外植体形成愈伤组织, 8 天后转移至含盐培养基培养。含盐培养基不含琼脂, 而以脱脂棉作为支持物。盐浓度分别为 0% (CK)、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%, 其它成分同琼脂培养基。短时培养为 24、48、72 小时, 长时间培养为 16、20、24 天。

到时间后, 用含 0.1M 蔗糖 pH=7.8 的磷酸缓冲液按 1:4 的比例提取愈伤组织,

^{*} 收稿日期 1998-03-04
Received on March 4, 1998

4℃, 3000g 离心 15分,上清液为提取液。

SOD活性测定参照 Griannoplitis 和 Ries(1977)^[8]的方法, SOD同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳参照^[6],电泳进样量为 50μl

结果与分析

1 愈伤组织在含盐培养基中短时间培养时 SOD活性变化

试验结果如图 1 在处理 24小时到 48小时期间,各种盐度 SOD活性均呈现上升趋势。而在处理 48小时到 72小时期间,对照和 0.4% 浓度下, SOD活性变化不大,其它浓度继续呈上升趋势,在处理时间相同时,随着盐浓度的增加, SOD活性增强

2 愈伤组织在含盐培养基中长时间培养时 SOD活性变化

从图 2可以看出,培养时间为 16天时, 0.4% 的 SOD活性处于最高状态,且高于对照,其余均低于对照。1.6% 活性最低, 1.2% 和 0.8% 差异不大。培养到 20天时, 0.4% 仍高于对照而低于 16天时的,其它浓度虽低于对照却比 16天时稍有提高。到 24天时,各种盐度下 SOD活性均下降, 0.4% 也降到低于对照水平, 1.6% 的始终处于最低水平。这与短时间培养的愈伤组织 SOD活性完全不同。短时间培养时,总体上 SOD活性较高,(最高为 100.5酶单位每毫克蛋白,最低为 76酶单位每毫克蛋白),而长时间培养时 SOD活性较

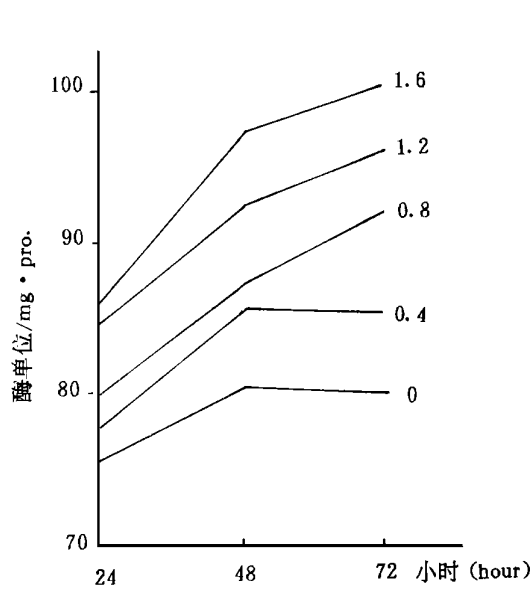


图 1 短时间培养时 SOD活性的变化

Fig. 1 Changes of SOD activity for short time culture

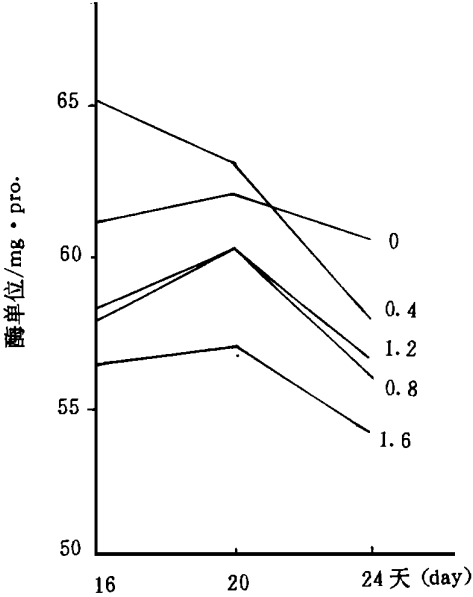


图 2 长时间培养时 SOD活性变化

Fig. 2 Changes of SOD activity for long time culture

低(最高 65.2,最低 54.4,单位同前)。短时间培养时,随盐度的升高和时间的延长 SO D活性增强,而长时间培养时,盐度越高, SOD活性就处于越低的状态。只有低盐 (0.4%) 的在 16 20天时高于对照, 24天时则降到低于对照水平。这说明在较高盐度胁迫下,愈伤组织

SOD 活性不能始终保持在较高状态, 随时间延长, 盐浓度越高, 下降幅度越大而处于较低的活性状态

3 愈伤组织在含盐培养基中短时间培养时 SOD 同工酶的变化

图 3 基本显示 7 条酶带, 同罗广华等^[4]所研究的同工酶谱带基本一致, 有所不同的是大豆愈伤组织的第 7 条带活性极弱, 第 5 6 7 条带迁移率较大, 第 2 3 4 条带次之, 第一条带迁移率最小

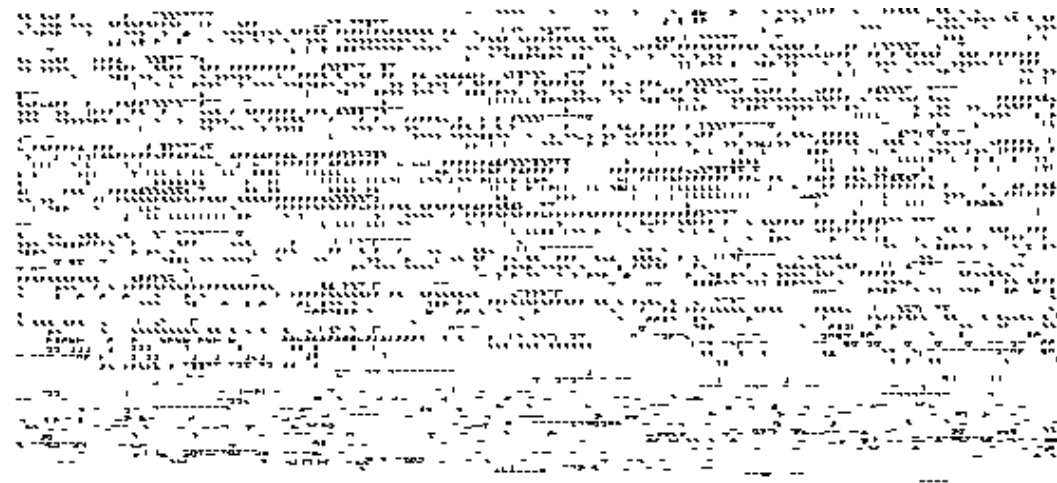


图 3 SOD 同工酶的变化

Fig. 3 Changes of superoxide dismutased isozyme

在培养 24 小时时, 对照及各种浓度盐胁迫下的第 7 条酶带活性极弱, 第 5 6 条酶带对照的活性较弱, 而在各种盐度胁迫下的均有所增强, 其它酶带差异不大。随着胁迫时间的延长, 各酶带活性均比 24 小时有所提高。第 7 条提高不大, 只在 72 小时时, 1.6% 的此条带活性较高, 第 6 条带随盐浓度增高而活性渐升高, 并且在 48 小时时, 1.6% 的该带活性最高, 1.2% 和 0.8% 的次之, 在 72 小时时, 1.6%、1.2% 该带活性较高, 0.8%、0.4% 及对照较弱。第 5 条带在 48 小时时 0.8% 活性较强, 1.2% 次之; 72 小时时该带 1.6% 活性最高, 依次为 1.2%、0.8%、0.4% 对照。第 2 3 4 条带在 72 小时时随盐度增加, 活性呈上升趋势。

上述结果表明: 大豆愈伤组织 SOD 同工酶在盐胁迫 24 48 72 小时中的变化与酶活性分析结果基本一致。其中第 5 6 条带对盐胁迫适应性反应强, 第 2 3 4 条带在盐浓度增高和胁迫时间延长的情况下, 其活性始终能保持较高水平, 甚至 72 小时, 1.6%、1.2% 的高盐度下还有所增强。酶带 1 活性基本稳定, 这对抗盐都是有利的。

讨论与结论

盐胁迫对大豆愈伤组织的影响是广泛的。Kalix (1981) 指出盐胁迫下的植物可以形成较多的 O_2^- ; 王爱国等 (1986) 指出, 大豆下胚轴线粒体呼吸链能产生分子氧的单电子还原

成 O_2^- , 这可能是植物细胞内源发生 O_2^- 的一个重要途径。盐胁迫下 SOD 活性及其同工酶活性提高, 可能有两个途径: ① 酶本身催化效率的提高; ② 增加酶蛋白的合成, 从而增加酶蛋白总量。SOD 及其同工酶活性的增强在清除 O_2^- , 避免膜伤害方面起着重要作用, 这是植物对盐胁迫的一种适应性反应, 为其度过不良环境起着重要作用。但 SOD 活性在长时间胁迫下不能保持在较高状态, 说明这种胁迫环境已超出了植物本身自我调节的能力, 这也可能是盐渍环境下植物生长受抑制, 产量下降, 提前衰老、死亡的原因之一。本试验中短时间培养时 SOD 活性随时间延长、盐浓度提高而提高, 而长时间培养时, 活性下降, 20 天后尤为明显, 并且随盐度提高下降幅度越大, 正说明这了一点。

参 考 文 献

- [1] 周荣仁, 1984, 植物组织培养在选择耐盐植物方面的研究概况, 曲阜师学院报, 植物抗盐生理专刊
- [2] 周荣仁等, 1984, 植物生理学通讯, (5): 13- 16
- [3] 王建华, 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
- [4] 罗广华等, 1984, 大豆和花生种子超氧化物歧化酶的同工酶研究, 植物生理学报, 10(2): 175- 179
- [5] 廖祥儒等, 1997, 玉米素对盐渍下葡萄叶圆片 H_2O_2 清除系统的影响, 植物学报, 39(7): 641- 646
- [6] 罗广华, 王爱国, 1983, 植物生理学通讯, (6): 44- 45
- [7] Tanaka K. et al., 1980, Plant Physiol 21: 601
- [8] Wated A. et al., 1983, Plant Physiol 73(3): 624- 629
- [9] Griannopltis C N, Ries S K. Superoxide diasmutase I. Occurence in higher plants. Plant Physiol, 1977, 59: 309

STUDIES ON THE CHANGES OF SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY AND ITS ISOZYME IN PRIMARY LEAVES CALLUS OF SOYBEAN UNDER SALT STRESS

Wei Aili Bai Hua Chen Yunzhao Feng Wengxin

(Department of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

Abstract

The primary leaves callus of soybean was cultured on the various mediums which contain 0 (control), 0. 4%, 0. 8%, 1. 2%, 1. 6% NaCl for shorter time, i. e. 24, 48, 72 hours, and for long time, i. e. 16, 20, 24 days to study the changes of SOD activity and its isozyme. The results were as follows. When they were cultured for shorter time, the activity of SOD were higher with the prolonging of time and increase of salt concentration. On the contrary, when they were cultured for long time, the result were opposite. Its isozyme show regular changes.

Key words Salt stress; Soybean; Callus; SOD; Isozyme