

## NaCl胁迫对野生及栽培大豆渗透调节物质含量的影响

郑世英<sup>1</sup>, 郑建峰<sup>2</sup>, 张秀玲<sup>1</sup>, 李妍<sup>1</sup>

(1. 德州学院 生物系; 2. 德州学院 经管系, 山东 德州 253023)

**摘要:** 采用沙培试验对 NaCl 胁迫条件下野生及栽培大豆叶片中可溶性糖、脯氨酸、可溶性蛋白质含量以及地上部及根部  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  含量进行了测定。结果表明: 0~200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度范围内, 随着 NaCl 胁迫浓度的增加, 野生大豆叶片可溶性糖、脯氨酸含量均逐渐增加, 可溶性蛋白含量先升高后降低; 栽培大豆脯氨酸含量逐渐升高, 可溶性糖及蛋白含量均先升高后降低; 2 种大豆地上部及根系  $\text{Na}^+$  含量均随胁迫程度的增加而增加;  $\text{K}^+$  含量均随胁迫程度增加下降。在 NaCl 胁迫下, 2 种大豆均可通过渗透调节来抵抗盐的胁迫, 野生大豆的渗透调节能力强于栽培大豆。

**关键词:** NaCl 胁迫; 野生大豆; 栽培大豆; 渗透调节物质

**中图分类号:** S565.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-9841(2011)05-0786-04

## Effect of NaCl Stress on the Content of Osmotic Regulation Substances in *Glycine soja* and *Glycine max*

ZHENG Shi-ying<sup>1</sup>, ZHENG Jian-feng<sup>2</sup>, ZHANG Xiu-ling<sup>1</sup>, LI Yan<sup>1</sup>

(1. Department of Biology, Dezhou University; 2. Department of Economics and Management, Dezhou University, Dezhou 253023, Shandong, China)

**Abstract:** The salt tolerance of wild (*Glycine soja*) and cultivated soybean (*Glycine max*) were investigated through sand culture method. The content of soluble sugars, proline and soluble proteins in soybean leaves and the content of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  of above-ground organs and roots were measured under different NaCl concentrations (0–200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). With the increasing of NaCl concentration, soluble sugar and proline content gradually increased, while soluble protein first increased and then decreased in the wild soybean; for cultivate soybean, proline content gradually increased, while soluble sugars and proteins increased first and then decreased. The  $\text{Na}^+$  content of above-ground organs and roots of two kinds of soybeans increased, while  $\text{K}^+$  content decreased with the NaCl stress rising. It demonstrated that both wild and cultivated soybeans could resist NaCl stress through osmotic regulation, the osmotic adjustment ability of wild soybean was better than cultivated soybean.

**Key words:** NaCl stress; *Glycine soja*; *Glycine max*; Osmotic regulation substances

盐分胁迫主要由渗透胁迫和离子胁迫组成<sup>[1]</sup>。渗透调节是植物适应盐胁迫的主要生理机制之一, 是植物对盐分胁迫的一种适应性反应。渗透调节物质包括无机离子和有机亲和物质, 细胞吸收大量无机离子虽然能降低细胞渗透势, 使细胞获得充足的水分, 但高浓度无机离子不可避免地对细胞生理系统造成直接伤害。一般认为无机离子吸收进细胞后, 大部分被运进液泡, 与细胞质隔离开来, 而通过合成有机亲和物质来平衡细胞质内外的渗透势。这些有机亲和物质包括可溶性糖, 游离氨基酸等<sup>[2]</sup>。

野生大豆的染色体数与栽培大豆相等 ( $2n = 40$ ), 它们之间不但容易杂交、结实性好, 而且杂交后代的遗传方式与栽培大豆品种间杂交后代的遗传方式相似, 因此被认为是我国大豆优质、高产和

多抗育种的重要遗传种质材料<sup>[3]</sup>。在栽培大豆的遗传基础越来越窄的情况下, 利用野生大豆进行大豆种质创新具有良好的应用和发展前景。而对野生大豆耐盐机理的研究是进行大豆耐盐性改良的基础。近年来, 许多研究者相继开展有关野生大豆耐盐性的研究工作, 目前已取得明显进展。Lou 等<sup>[4]</sup>发现, 野生大豆与栽培大豆在耐盐方式和机理方面存在差异。於丙军等<sup>[5]</sup>已对部分野生大豆和栽培大豆耐盐性进行了鉴定, 发现某些野生大豆资源耐盐性较强。该研究以野生大豆和栽培大豆为材料, 研究 NaCl 胁迫下野生大豆和栽培大豆幼苗地上部渗透调节物质及根系、地上部  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  含量的变化规律, 为大豆耐盐性品种的选育奠定基础。

收稿日期: 2011-04-19

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (2009ZRA14002-2008D40)。

第一作者简介: 郑世英 (1962–), 女, 教授, 主要从事植物抗性生理研究。E-mail: zsy0015@163.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试野生大豆种子采自山东省垦利县黄河入海口的盐碱滩上自然生长的野生植株,其土壤平均含盐量均大于 1%。栽培大豆为鲁豆 2 号,由德州市农业科学院提供。

### 1.2 试验方法

分别选取籽粒饱满、大小一致的野生大豆和栽培大豆种子,经 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒 10 min,自来水冲洗干净后浸种 6 h (其中野生大豆需划破种皮),分别播种在装有湿沙的塑料盆中,置于温室中,自然光照,昼夜温度 28/22℃,相对湿度 85%。待出苗后浇以 1/2 浓度 Hoagland 培养液,生长一个月后选取生长一致的幼苗进行盐处理,试验设计 5 个处理水平,NaCl 胁迫浓度分别为 0、50、100、150、200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (NaCl 溶液用完全 Hoagland 营养液配制),每 24 h 浇灌 1 次,每次浇灌 50 mL,浇灌 3 次后,测定有关指标。每个处理 3 次重复。

### 1.3 测定项目与方法

可溶性糖含量的测定采用蒽酮—浓硫酸法<sup>[6]</sup>。脯氨酸含量的测定采用酸性茚三酮法<sup>[6]</sup>。可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法<sup>[6]</sup>。地上部和根部离子含量的测定参照王宝山和赵可夫<sup>[7]</sup>的方法。

### 1.4 数据处理

采用 Excel 2003 和 DPS 3.0 进行数据处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaCl 胁迫对大豆叶片可溶性糖含量的影响

如图 1 所示,野生大豆在 0 ~ 200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 浓度范围内,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,叶片可溶性糖含量逐渐增加,200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时可溶性糖含量达到最大。栽培大豆在 0 ~ 150  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 浓度范围内,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,叶片可溶性糖含量逐渐增加,150  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到最大值,随着 NaCl 胁迫浓度的进一步增加,可溶性糖含量降低。在相同的 NaCl 浓度胁迫下,野生大豆的可溶性糖含量均高于栽培大豆。这说明野生大豆的渗透调节能力较强,而栽培大豆渗透调节作用有一定局限性,严重 NaCl 胁迫使渗透调节能力降低,从而导致可溶性糖含量的降低<sup>[8]</sup>。

### 2.2 NaCl 胁迫对大豆叶片脯氨酸含量的影响

如图 2 所示,0 ~ 200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度范围内,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,野生大豆和栽培大豆叶片脯氨酸含量均逐渐增加,200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到最

大值。这是因为在 NaCl 胁迫下, $\text{Na}^+$  可以促进谷氨酸和鸟氨酸合成脯氨酸,同时还对促进脯氨酸氧化的酶具有显著的抑制作用<sup>[9-10]</sup>。在相同浓度的 NaCl 胁迫下,野生大豆的脯氨酸含量均高于栽培大豆。说明与栽培大豆相比野生大豆的渗透调节能力较强。

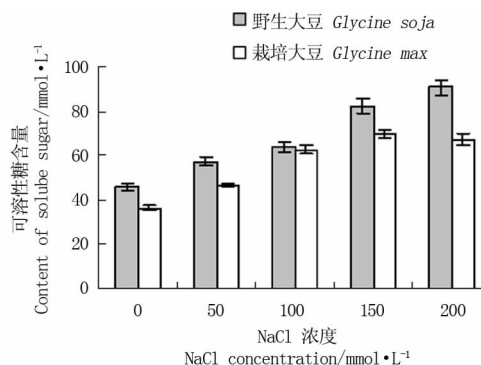


图 1 不同浓度 NaCl 胁迫对野生大豆及栽培大豆叶片可溶性糖含量的影响  
Fig. 1 Effect of different NaCl stress on the content of soluble sugars in GS and GM leaves

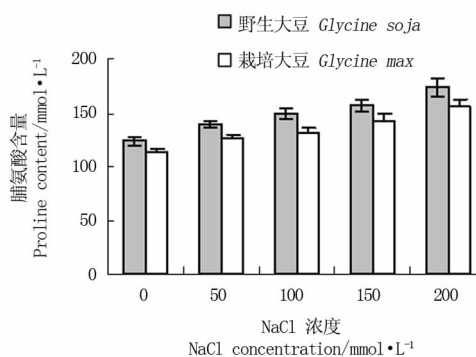


图 2 不同浓度 NaCl 胁迫对野生及栽培大豆叶片脯氨酸含量的影响  
Fig. 2 Effect of different NaCl stress on the content of proline in GS and GM leaves

### 2.3 NaCl 胁迫对可溶性蛋白含量的影响

如图 3 所示,0 ~ 200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度范围内,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,野生大豆和栽培大豆叶片可溶性蛋白质含量均表现先增加后下降的趋势,分别在 NaCl 浓度为 150 和 100  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到最大值。并且在相同浓度的 NaCl 胁迫下,野生大豆的可溶性蛋白质含量均高于栽培大豆,表明野生大豆的耐盐能力较强。初期蛋白质增加是盐胁迫下增加的可溶性蛋白质,包括具有催化功能的蛋白质—酶,其含量增加,植物体内代谢旺盛,从而提高抵御盐环境的能力<sup>[11]</sup>。后期随着 NaCl 胁迫浓度的增加,可溶性蛋白质含量下降是由于复合蛋白分解成可溶性蛋白质后,因继续受 NaCl 胁迫,又进一步分解成氨基酸,因此可溶性蛋白质含量又表现下降趋势。

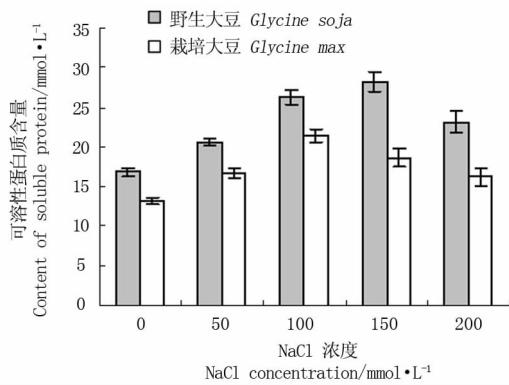


图3 不同浓度NaCl胁迫对野生大豆及栽培大豆叶片可溶性蛋白质含量的影响

Fig.3 Effect of different NaCl stress on the content of soluble protein in GS and GM

#### 2.4 NaCl胁迫对大豆地上部及根系Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>含量的影响

如表1所示,0~200 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl胁迫处理下,野生大豆和栽培大豆地上部及根系Na<sup>+</sup>含量均随胁迫程度的增加而增加;地上部及根系K<sup>+</sup>随胁迫程度增加下降;根系及地上部Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>随胁迫程

度增加而增加,不同浓度处理间差异均达到显著水平( $P < 0.05$ )。野生大豆和栽培大豆地上部的Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>含量始终高于根系。Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>往往通过Na-K共转运蛋白相互竞争<sup>[12]</sup>。Na<sup>+</sup>竞争K<sup>+</sup>的吸收位点及活性位点,因此根系对Na<sup>+</sup>吸收增加的同时抑制了对K<sup>+</sup>的吸收,随着NaCl胁迫浓度的提高也导致了Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>比值的不断提高。0~150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl处理条件下,野生大豆地上部及根部的K<sup>+</sup>含量均高于栽培大豆,较高的K<sup>+</sup>含量可能是维持野生大豆较高耐盐性的原因。

### 3 讨论

渗透调节可以帮助植物适应盐的胁迫。大豆在盐胁迫下的渗透调节主要是通过可溶性糖、脯氨酸、可溶性蛋白含量及地上部及根系Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>含量的变化<sup>[13]</sup>。可溶性糖含量的增加对维持逆境下植物体活性氧的平衡具有重要意义,它可以稳定细胞和膜结构,减少其受损伤程度<sup>[14]</sup>。

表1 NaCl胁迫对野生大豆及栽培大豆地上部及根系Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>含量的影响

Table 1 Effect of different NaCl stress on Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> content in shoots and roots of GS and GM (mg · kg<sup>-1</sup>)

NaCl 浓度 NaCl concentration /mmol · L <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup>				K <sup>+</sup>				Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>			
	野生大豆		栽培大豆		野生大豆		栽培大豆		野生大豆		栽培大豆	
	根部	地上部	根部	地上部	根部	地上部	根部	地上部	根部	地上部	根部	地上部
0	1.28a	1.42a	1.17a	1.22a	35.47a	37.82a	32.56a	33.24a	0.036a	0.038a	0.036a	0.037a
50	8.76b	11.23b	7.16b	13.45b	30.12b	33.17b	27.62b	30.18b	0.291b	0.339b	0.259b	0.446b
100	12.88c	14.29c	13.28c	16.11c	28.08c	32.25c	26.10c	27.34c	0.459c	0.443c	0.509c	0.589c
150	16.15d	20.36d	16.10d	17.21c	26.87d	30.31d	25.27d	26.46d	0.601d	0.672d	0.637d	0.650d
200	19.48e	23.42e	20.32e	23.48d	22.34e	24.85e	24.88e	25.86e	0.872e	0.942e	0.817e	0.908e

同列数值的不同字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。

Values within the same column followed by different letters were significantly different( $P < 0.05$ ).

大量的研究表明,盐处理下植物都会产生游离脯氨酸的累积<sup>[15-17]</sup>。脯氨酸存在于原生质中,它可以作为渗透调节物质保持原生质与环境的渗透平衡,防止水分散失;也可以与蛋白质相互作用增加蛋白质的可溶性和减少可溶性蛋白质的沉淀,增加蛋白质和蛋白质之间的水合作用;与渗透调节下急剧增加的氧自由基发生反应,使之转变为其它物质,清除活性氧的危害;防止质膜损伤,保护多核糖体的正常功能,从而保存细胞膜结构的完整性<sup>[18]</sup>。

蛋白质是生命的物质基础,在多种逆境(干旱、盐分、病菌侵染等)胁迫下,植物体内正常蛋白质合成常会受到抑制,但也会诱导产生一些新蛋白或使原有蛋白含量明显增加,该研究表明在NaCl胁迫初期可溶性蛋白含量上升,但随着NaCl胁迫强度的增加可溶性蛋白含量下降。原因是随着胁迫强度的增加,蛋白酶的活性提高,加快了蛋白质的水解,同时RNA转录和翻译受到抑制,造成蛋白质含

量减少<sup>[19]</sup>。野生大豆在150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl处理时可溶性蛋白达到最大值,而栽培大豆在100 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl处理时可溶性蛋白就达到最大值,可能是由于栽培大豆的耐盐性较低,其合成可溶性蛋白的能力相对较弱。

NaCl胁迫下,随着胁迫程度的增加,根系及地上部Na<sup>+</sup>含量逐渐增加,并且地上部Na<sup>+</sup>含量高于根部,表明由根部吸收的Na<sup>+</sup>最终积累于地上部。随着NaCl胁迫程度的增加,根系及地上部K<sup>+</sup>含量均逐渐降低。Na<sup>+</sup>可能作为渗透调节物质进入植物体内以部分取代K<sup>+</sup>的外流来调节体内渗透压,维持渗透平衡,增加吸水。有人认为K<sup>+</sup>营养是植物耐盐的关键性因素<sup>[20]</sup>。盐处理条件下2种大豆的地上K<sup>+</sup>离子含量高于根部,但在0~150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl胁迫下野生大豆根部及地上部的K<sup>+</sup>含量始终高于栽培大豆。进一步证明野生大豆的渗透调节能力强于栽培大豆。

## 参考文献

- [1] 王志春,杨福,齐春艳,等. 盐碱胁迫下水稻渗透调节的生理响应[J]. 干旱地区农业研究,2010,28(6):153-157. (Wang Z C, Yang F, Qi C Y, et al. Osmotic regulation response of rice to soil salinity and alkalinity stresses[J]. Agricultural Research in the Arid Areas,2010,28(6):153-157. )
- [2] 彭向永,徐永茹,唐萍,等. 外源钙对低温胁迫下甜瓜幼苗膜稳定性和渗透调节物质的影响[J]. 曲阜师范大学学报,2011,37(1):81-84. (Peng X Y, Xu Y R, Tang P, et al. Effects of Ca on the membrane stability and osmolytes in melon seedlings under low temperature stress[J]. Journal of Qufu Normal University (Natural Science), 2011, 37(1): 81-84. )
- [3] 邵桂花,常汝镇,陈一舞. 大豆耐盐性遗传的研究[J]. 作物学报,1994,20(6):721-726. (Shao G H, Chang R Z, Chen Y W. Study on inheritance of salt tolerance in soybean[J]. Acta Agronomica Sinica, 1994, 20(6): 721-726. )
- [4] Luo Q Y, Yu B J, Liu Y L. Differential sensitivity to chloride and sodimions in seedlings of *Glycine max* and *Glycine soja* under NaCl stress[J]. Journal Plant Physiology, 2005, 162: 1003-1012.
- [5] 於丙军,刘友良. 大豆耐盐性研究进展[J]. 大豆科学,2000,19(2):154-159. (Yu B J, Liu Y L. Research in salt tolerance of soybean[J]. Soybean Science, 2000, 19(2): 154-159. )
- [6] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 58-60. (Zhang Z L. Plant physiology experimental guide [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003: 58-60. )
- [7] 王宝山,赵可夫. 小麦叶片中 Na、K 提取方法的比较[J]. 植物生理学通讯,1995,31(1):50-52. (Wang B S, Zhao K F. The Comparison of Na, K extraction methods to wheat leaves[J]. Plant Physiology Communications, 1995, 31(1): 50-52. )
- [8] 颜建明,郁继华,颜敏华,等. 低温弱光下辣椒 3 种渗透调节物质含量变化及其品种耐性的关系[J]. 西北植物学报,2009,29(1):105-110. (Xie J M, Yu J H, Xie M H, et al. Changes of three osmotic regulatory metabolites in leaves of pepper under low temperature and poor light stress and relations between its and varietal tolerance[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(1): 105-110. )
- [9] 宋姗姗,刘玲,隆小华,等. 氯化钾对长春花盛花期盐胁迫效应和生物碱含量的影响[J]. 西北植物学报,2010,30(7):1418-1422. (Song S S, Liu L, Long X H, et al. Effects of KCl on the growth and alkaloid content of *Catharanthus roseus* flowering under salt stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(7): 1418-1422. )
- [10] 王丽燕. NaCl 处理对野大豆生理生化特性的影响[J]. 大豆科学,2008,27(6):1067-1071. (Wang L Y. Effects of NaCl stress on physiological and biochemical characters of *Glycine soja* [J]. Soybean Science, 2008, 27(6): 1067-1071. )
- [11] Zhou W, Sun Q J. Effect of salt stress on ammonium assimilation enzymes of the roots of rice cultivars differing in salinity resistance [J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 48(8): 921-927.
- [12] 宋旭丽,侯喜林,胡春梅,等. NaCl 胁迫对超大甜椒种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 西北植物学报,2011,31(3):569-573. (Song X L, Hou X L, Hu C M, et al. Seed germination and seedling growth of sweet pepper under NaCl stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(3): 569-573. )
- [13] 崔江慧,李霄,常金华. NaCl 胁迫对高粱幼苗生理生化特性的影响[J]. 作物杂志,2011(1):66-69. (Cui J H, Li X, Chang J H. Effect of NaCl stress on physio-biochemical characteristics of sorghum seedlings[J]. Crops, 2011(1): 66-69. )
- [14] 陈慧哲,朱德峰. 盐胁迫下水稻苗期  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  规律的初步研究[J]. 植物生态学报,2007,31(5):937-945. (Chen H Z, Zhu D F. Absorption and distribution of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  in rice seedling under salt stress [J]. Journal of Plant Ecology, 2007, 31(5): 937-945. )
- [15] 魏海霞,孙明高,夏阳,等. NaCl 处理对苦楝细胞膜透性和有机渗透调节物质含量的影响[J]. 甘肃农业大学学报,2005,40(5):599-603. (Wei H X, Sun M G, Xia Y, et al. Effects of NaCl stress on the membrane permeability and the content of osmotic adjustable organic substances of *Melia azedarach* seedlings[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2005, 40(5): 599-603. )
- [16] Logan B A, Demming-Adams B, Rosenstiel T N, et al. Effect of nitrogen limitation on foliar antioxidants in relationship to other metabolic characteristics[J]. Planta, 1999, 209: 213-220.
- [17] Delauney A J, Hu C A, Kishor P B, et al. Cloning of ornithine delta-aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis [J]. Journal of Biological Chemistry, 1993, 268(25): 18673-18678.
- [18] 杜金友,陈晓阳,胡东南,等. 干旱胁迫下胡枝子渗透物质的变化[J]. 福建林学院学报,2006,26(4):349-352. (Du J Y, Chen X Y, Hu D N, et al. Change of osmolytes in *Lespedeza* under drought stress[J]. Journal of Fujian College of Forestry, 2006, 26(4): 349-352. )
- [19] 杨颖丽,徐世健,保颖,等. 盐胁迫对两种小麦叶片蛋白质的影响[J]. 兰州大学学报,2007,43(1):70-73. (Yang Y L, Xu S J, Bao Y, et al. Effect of NaCl on protein in two cultivar leaves[J]. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences), 2007, 43(1): 70-73. )
- [20] Zhu J K, Liu J P, Ming X. Genetic analysis of salt tolerance in *Ara-bidopsis*: Evidence for a critical role potassium nutrition[J]. The Plant Cell, 1998, 10: 1191-1194.