

# 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 和 POD 活性的影响

白桦, 王玉国

(山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801)

**摘要:** 将大豆小真叶愈伤组织分别在 NaCl 浓度为 0 (ck), 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6% 及在各盐浓度中加脯氨酸 (0.8 mmol/L) 的培养基中进行 24, 48, 72 h 培养, 测定其 SOD 和 POD 活性的变化。结果表明, 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 和 POD 活性均有不同程度的促进作用。SOD 活性在 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6% 盐浓度的各种培养时间下均受到促进, 其中 NaCl 浓度为 0.8% 的增加较明显。POD 在各种盐浓度下均在培养 72 h 时, 促进其活性增强的作用最明显。

**关键词:** 外源脯氨酸; 盐胁迫; 大豆; 愈伤组织; SOD; POD

**中图分类号:** S565.103.4    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000-7091(2002)03-0037-04

近年来, 越来越多证据表明, 植物在逆境条件下积累游离脯氨酸是作为其对逆境的一种适应表现<sup>[1]</sup>, 脯氨酸在植物抗盐和抗旱中的作用受到人们的重视。盐胁迫形成游离氨基酸积累的现象已有较多的报道<sup>[2~4]</sup>, 也有外源脯氨酸能提高盐胁迫条件下植物抗渗透胁迫能力的报道<sup>[5,6]</sup>, 但对其作用的机理研究较少。目前, 生物自由基伤害学说已被作为植物在逆境下的一个伤害机制而受到重视。植物遭受逆境胁迫时, 体内自由基产生速率高于清除速率, 自由基积累, 导致膜脂过氧化, 使膜结构破坏, 胞内物质外渗, 引起一系列生理生化变化, 代谢紊乱, 致使植物遭受伤害<sup>[7]</sup>。因此, 研究清除植物体内自由基的酶保护系统在盐胁迫下的行为, 是探明外源脯氨酸对提高植物抗盐性作用机理的途径之一。本研究用组织培养技术研究了外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 和 POD 活性的影响, 目的在于为抗盐机理研究及利用离体筛选技术进行大豆抗盐育种提供理论依据和有利条件。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料处理

将晋豆 1 号的种子于湿砂中萌发, 取其未伸出子叶的小真叶, 切成直径约 2 mm 小块, 接种在 B5+ NAA 2mg/L+ KT 2 mg/L 的琼脂培养基上, 待小真叶外植体形成愈伤组织, 8 d 后, 将其转移至含盐及含盐并加脯氨酸的培养基中, 分别进行 24, 48, 72 h 培养。培养温度 18~25℃, 每天补充光照 10 h, 光照强度 3 000 lx。含盐培养基不含琼脂, 以脱脂棉作为

收稿日期: 2001-10-29

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(92022)

作者简介: 白桦(1959-), 男, 实验师, 主要从事组织培养方面的研究工作。

支持物, 含盐( NaCl) 浓度分别为 0( ck) , 0. 4% , 0. 8% , 1. 2% , 1. 6% , 其他成分与琼脂培养基相同, 外源脯氨酸浓度为 0. 8 mmol/ L。以上处理均设 4 个重复。

1. 2 测定

愈伤组织以磷酸缓冲液( pH 7. 8, 含 0. 1 mol/ L 蔗糖) 按 1: 4 的比例提取, 4 ℃下离心( 8 000 r/ min) 15 min, 上清液备用。SOD 参照朱广廉方法<sup>[8]</sup>测定, 以每分钟抑制 NBT 光还原 50% 为一酶活单位。POD 参照华东师大方法<sup>[9]</sup>测定, 以  $\Delta OD_{470}/( \text{mg} \cdot \text{min})$  表示。试验结果均为 3 次测定的平均值。

2 结果与分析

2. 1 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 活性的影响

由表 1 看出, 不加脯氨酸条件下, 在培养时间相同时, 随着盐浓度的增加, SOD 活性增强, 其中 1. 2% 和 1. 6% 的增强较为明显, 并且 1. 6% 的处理在各培养时间下都处于最高状态。培养时间由 24 h 增到 48 h, 各种盐浓度( 包括 ck) 的 SOD 活性均呈上升趋势; 由 48 h 增到 72 h, ck 和 0. 4% 的稍有降低, 0. 8% , 1. 2% , 1. 6% 的继续呈上升趋势。此结果说明, 在本试验的盐浓度范围和培养时间范围内, 基本上是随盐浓度的升高和培养时间的延长, SOD 活性增强。将加脯氨酸与不加脯氨酸的数据进行对比可知( 表 1) , 在各种培养时间下, 盐浓度为 0, 0. 4% , 0. 8% , 1. 2% 时, 加脯氨酸比不加对 SOD 活性均有促进作用。其中 0. 8% 的盐浓度下增加较明显, 培养 24, 48, 72 h 分别增加 4. 35% , 2. 34% , 1. 75% ; 0. 4% 的低盐浓度下, 培养 72 h 促进作用最强, 增加 4. 94% , 大于 0. 8% 培养 24 h 的; 1. 2% 的较高盐浓度下, 培养 48 h 的促进作用较强, 增加 1. 51% , 次于 0. 8% 培养 72 h 的; 在 1. 6% 的高盐浓度下, 培养 24 h, SOD 活性稍有增加, 培养时间增至 48 和 72 h, 加脯氨酸比不加的 SOD 活性还低。说明外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 活性有促进作用, 低盐下培养时间长, 促进作用强, 盐浓度增至一定程度, 随培养时间延长这种作用就减弱以至消失。

表 1 外源脯氨酸与盐胁迫下大豆愈伤组织 SOD 活性的变化 u/ mg

培养时间 (h)	NaCl 浓度( % )				
	0	0. 4	0. 8	1. 2	1. 6
24	$\frac{75.82}{76.91}(+1.09)$	$\frac{78.04}{78.83}(+0.79)$	$\frac{80.00}{83.40}(+3.40)$	$\frac{84.91}{85.73}(+0.82)$	$\frac{86.13}{86.97}(+0.84)$
48	$\frac{80.05}{82.33}(+2.38)$	$\frac{85.15}{85.90}(+0.75)$	$\frac{86.90}{89.13}(+2.23)$	$\frac{92.44}{93.83}(+1.39)$	$\frac{97.84}{96.91}(-0.93)$
72	$\frac{78.90}{80.08}(+1.18)$	$\frac{84.26}{88.43}(+4.17)$	$\frac{92.14}{93.76}(+1.62)$	$\frac{96.32}{97.05}(+0.73)$	$\frac{101.23}{98.08}(-3.15)$

注: 分子为不加脯氨酸的, 分母为加脯氨酸 0. 8 mmol/ L 的, 括号中为分母较分子的±值, 下表同

2. 2 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织 POD 活性的影响

由表 2 看出, 不加脯氨酸条件下, 培养 24 h, 各盐浓度下愈伤组织的 POD 活性均低于无盐胁迫的 ck, 说明此时 POD 活性受到明显抑制。培养时间增至 48 h, 除 0. 4% 的以外, 各盐浓度下的 POD 活性明显高于 ck, 其中 1. 2% 和 1. 6% 的提高较显著, 1. 6% 达最高值。说明盐胁迫 48 h 时, 在试验的高盐浓度下, 愈伤组织表现出 POD 活性增高的反应。培养时

间增至 72 h, 0.4%, 0.8% 盐浓度的 POD 活性进一步升高, 而 1.2% 和 1.6% 的有所下降。与 SOD 相比, POD 对盐胁迫的适应反应较缓慢, 而且高盐(1.2%, 1.6%) 下保持酶活性较高的时间短, 达 72 h 时酶活性降低。

表 2 外源脯氨酸与盐胁迫下大豆愈伤组织 POD 活性的变化  $\Delta OD_{470}/(mg \cdot min)$

培养时间 (h)	NaCl 浓度( % )				
	0	0.4	0.8	1.2	1.6
24	$\frac{39.18}{36.83}(-2.35)$	$\frac{36.85}{37.50}(+0.65)$	$\frac{37.80}{40.03}(+2.23)$	$\frac{37.50}{40.80}(+3.30)$	$\frac{39.08}{41.63}(+2.55)$
48	$\frac{38.30}{38.92}(+0.62)$	$\frac{37.97}{39.00}(+1.03)$	$\frac{42.83}{43.21}(+0.38)$	$\frac{50.03}{52.83}(+2.80)$	$\frac{51.46}{54.56}(+3.90)$
72	$\frac{37.27}{38.33}(+1.06)$	$\frac{38.82}{44.33}(+5.51)$	$\frac{46.33}{51.67}(+5.34)$	$\frac{48.92}{53.24}(+4.32)$	$\frac{48.13}{53.72}(+5.59)$

从表 2 还可看出, 加脯氨酸培养 24 h, 能缓解盐对 POD 的抑制作用, 盐浓度为 1.2% 时 POD 活性增强最明显, 比不加脯氨酸的增高 8.08%。培养时间增至 48 h, 各种盐浓度下加脯氨酸的 POD 活性均比不加的有所增高, 其中 1.2% 和 1.6% 盐浓度的较为明显, 二者分别增高 5.59% 和 7.57%。培养时间增至 72 h, 各盐浓度下加脯氨酸的 POD 活性均有较明显的增高, 盐浓度 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6% 的比不加脯氨酸的分别增高 14.19%, 11.55%, 8.83%, 11.61%。说明外源脯氨酸能增强盐胁迫下大豆愈伤组织的 POD 活性, 各盐浓度下, 均在培养 72 h 时, 促进 POD 活性增强的作用最明显。

3 讨论

本试验中由于外源脯氨酸的加入, 使盐胁迫下大豆小真叶愈伤组织的 SOD 和 POD 活性有不同程度的增强。分析原因可能是: ①外源脯氨酸的供给, 增加了细胞内游离脯氨酸的积累, 渗透势和水势降低, 抗渗透胁迫能力增强, 能维持正常代谢; ②脯氨酸可保护细胞中酶等生物大分子的结构及功能, 使之不被 NaCl 破坏。SOD 和 POD 属于保护酶系统, 具有清除生物自由基的功能。这两种酶在盐胁迫条件下活性增强, 使细胞组织内自由基的产生与清除之间能保持平衡状态, 不会造成由于自由基积累导致膜脂过氧化, 膜差别透性丧失, 代谢紊乱, 致使细胞组织受害。外源脯氨酸可使盐胁迫条件下大豆愈伤组织的 SOD 和 POD 活性增强, 说明其有提高抗盐性的作用, 可以作为大豆采用离体筛选技术进行抗盐育种的有利条件。外源脯氨酸的适合浓度范围尚待研究。

参考文献:

[ 1 ] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的意义[ J ]. 植物生理学通讯, 1984, ( 1 ): 15- 21.

[ 2 ] 吕芝香, 乙 引. NaCl 对小麦叶片脯氨酸氧化酶活性与游离脯氨酸积累的影响[ J ]. 植物生理学报, 1992, ( 4 ): 276- 382

[ 3 ] 吕芝香, 许 斌, 毕晨光. 在 NaCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> 砂基培养液中小麦幼苗游离脯氨酸的积累[ J ]. 南京大学学报( 自然科学版), 1986, ( 22 ): 100- 105.

[ 4 ] 吕芝香, 仲崇信. NaCl 对大米草幼苗游离氨基酸成分和脯氨酸含量的影响[ J ]. 植物生理学报, 1982,

(8):393.

- [5] 陈 因, 方大惟. 外源脯氨酸对受 NaCl 胁迫的蓝藻固氮活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1992, (4): 254– 258.
- [6] 陈云昭, 王玉国, 杨 臣. 外源脯氨酸与盐胁迫下大豆愈伤组织的生理特性[A]. 植物抗性生理研究[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1992. 117– 120.
- [7] 白宝璋, 史芝文. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1996. 261– 262.
- [8] 朱广廉. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990.
- [9] 华东师范大学. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 人民教育出版社, 1980.

## Effect of Exogenous Proline on SOD and POD Activity for Soybean Callus under Salt Stress

BAI Hua, WANG Yur-guo

(Shanxi Agriculture University, Agronomy College, Taigu 030801, China)

**Abstract:** Callus of soybean leaves explant were cultured in B<sub>5</sub> medium NaCl bearing for 0, 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6%, adding 0.8 mmol/L proline, and SOD and POD activity were determined after 24, 48, 72 h. The result showed that exogenous proline can increase activity of SOD and POD of soybean callus under salt stress. SOD showed marked increase in NaCl 0.8%; while POD activity was most obvious under different salt solution after 72 h.

**Key words:** Exogenous proline; Salt stress; Soybean; Callus; SOD; POD