

氯化钠胁迫下野生和栽培大豆幼苗体内的多胺水平变化^{*}

於丙军 吉晓佳 刘俊 刘友良^{**}

(南京农业大学生命科学院,农业部国家大豆改良中心,南京 210095)

【摘要】 以通用的较耐盐的栽培大豆 Lee68 品种和对盐敏感的野生大豆 N23232 种群为参照,研究了盐胁迫下耐盐野生大豆 BB52 种群幼苗体内多胺(PAs)组分、含量及多胺氧化酶(PAO)活性的变化.结果表明,盐胁迫下 BB52 幼苗根 PAs 中 Put 和 Spm 含量下降较 Lee68 和 N23232 显著,但 Spd 含量下降较少. BB52 叶片 PAs 中 Put 含量下降, Spd 上升. (Spd + Spm)/Put 值增加和 Put/PAs 值降低幅度与耐盐性呈正相关趋势. 盐胁迫下,各材料根和叶中 PAO 活性上升, N23232 上升最明显. 探讨了多胺水平与 BB52 耐盐性的关系.

关键词 野生大豆 栽培大豆 盐胁迫 多胺(PAs) 多胺氧化酶(PAO)活性 耐盐性

文章编号 1001-9332(2004)07-1223-04 **中图分类号** Q945 **文献标识码** A

Changes of polyamines level in *Glycine soja* and *Glycine max* seedlings under NaCl stress. YU Bingjun, JI Xiaojia, LIU Jun, LIU Youliang (College of Life Science, National Center of Soybean Improvement, Agronomy Ministry of China, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2004, 15(7):1223~1226.

With internationally common-used *Glycine max* (the salt-tolerant Lee68) and *Glycine soja* (the salt-sensitive N23232) as reference, this paper studied the polyamines (PAs) contents and polyamine oxidase (PAO) activities in the highly salt-tolerant BB52 (*Glycine soja*) seedlings, which showed that under 150mmol·L⁻¹ NaCl stress for 2d, the decrease of Put and Spd contents was more significant, but that of Spd content was less significant in roots of BB52 than in those of Lee68 and N23232. For leaves, the decrease of Put and increase of Spd contents were markedly observed in BB52. The ascent of (Spm + Spd)/Put ratios and descent of Put/PAs ratios showed a positive relation to their salt tolerance. The PAO activity in roots and leaves was all increased, and most obvious in N23232. The relationship between PAs levels in BB52 and its salt tolerance was also discussed.

Key words *Glycine soja*, *Glycine max*, Salt stress, Polyamines(PAs), Polyamine oxidase(PAO) activity, Salt tolerance.

1 引言

多胺(Polyamines, PAs)是生物体代谢过程中产生的一类次生物质,在调节植物生长发育、控制形态建成、提高植物抗逆性、延缓衰老等方面具有重要作用^[8,11,15,16,20]. 常见 PAs 主要有腐胺(Put)、精胺(Spm)、亚精胺(Spd)和尸胺(Cad)等^[3,4,6]. 在高盐、渗透胁迫(如山梨醇、甘露醇等)及不适宜氮素下,植物体内会大量积累 Put^[10,17]. 现已证明,Put 含量的上升主要是由于精氨酸脱羧酶(ADC)活性上升所致. 过量积累的 Put 导致植物体内 Put/PAs 值升高,且使植物出现形态学的伤害,如叶片出现坏死斑点,茎和根生长下降等^[17]. Put 的毒害作用与位于植物细胞壁上的多胺氧化酶(PAO)催化 Put 氧化降解所产生的氨基醛、H₂O₂、自由基等物质的积累有关^[6]. 何生根等^[5,6]研究了正常生长条件下豌豆、豇豆、蚕

豆、花生和小麦等豆科及禾本科植物幼苗叶中的 PAO 活性. 不过,有关盐胁迫下大豆体内 PAs 组分、含量及 PAO 活性的变化,尤其对于生境和耐盐性不同的野生和栽培大豆的比较研究,目前尚未见报道. BB52 种群是在黄河入海口盐碱地上采集的耐盐野生大豆^[12],在种子发芽期和苗期均具有很强的耐盐能力^[19]. 本文以较耐盐的栽培大豆品种 Lee68 和对盐敏感的野生大豆种群 N23232 为参照,研究了盐胁迫对其幼苗体内 PAs 含量和 PAO 活性的影响,以期从 PAs 代谢角度探明其耐盐机理,为今后利用野生大豆提高栽培大豆耐盐性和进行盐碱地生物改良提供理论和实践依据.

^{*} 国家自然科学基金(39870069)、瑞典国际科学基金(IFS)(C/3143-1)、江苏省自然科学基金资助项目(BK2001070).

^{**} 通讯联系人. E-mail: zws1sh@public1.ppt.js.cn
2003-04-21 收稿, 2003-08-11 接受.

2 材料与方法

2.1 供试材料

材料为野生大豆种群 N23232(江苏高淳, 盐敏感)、BB52(山东垦利, 由东北师范大学陆静梅教授惠赠, 耐盐)和栽培品种 Lee68(USA, 耐盐性较强)种子。

2.2 测定方法

材料培养方法同前文^[18]。等幼苗第一片真叶全展后, 分成两组: 一组加 1/2 Hoagland 营养液, 另一组加含 150 mmol·L⁻¹ NaCl 的 1/2 Hoagland 溶液, 处理 2d 后分别取幼苗根和叶作为样品。多胺的提取和含量测定参照 Zhao 等^[21]方法进行。多胺氧化酶(PAO)测定按 Smith^[16]方法, 并略加改动。取适量大豆根尖或叶片加入 4 倍体积 0.05 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄-KH₂PO₄ 缓冲液(pH7.0), 冰浴中研磨, 离心(4℃, 10 000×g, 20 min), 上清液直接用于酶活性分析。3.6 ml 酶反应体系, 含 3 mmol·L⁻¹ Spd, 0.03 mmol·L⁻¹ 磷酸吡哆醛, pH7.0 的磷酸缓冲液, 0.5 ml 酶提取液。37℃下反应 60 min, 加入 0.5 ml 10% 三氯乙酸(TCA)终止反应, 离心取上清液加等体积 0.5% (W/V) 邻氨基苯甲醛试剂(用 95% 乙醇配制)。35℃显色 1 h 后于 435 nm 下比色, 酶活性用 ΔA₄₃₅·g⁻¹FW·h⁻¹表示, 以 1/10ΔA₄₃₅·g⁻¹FW·h⁻¹为一个酶活力单位(1 U)。以上每个样品重复 3 次。

3 结果与分析

3.1 盐胁迫下大豆幼苗根中 PAs 含量的变化

在 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 2 d 时, 供试 3 材料根中 Put、Spd、Spm 及其总量均有下降, 其中 BB52 根中 Put 和 Spm 及总量下降幅度均最大, 达极显著水平, 分别为 41.07%、70.59% 和 35.34%, Spd 降幅也最低(表 1)。

表 1 NaCl 胁迫下栽培和野生大豆幼苗根中 PAs 含量的变化
Table 1 Change of PAs contents in roots of *G. max* and *G. soja* seedlings under NaCl stress(μmol·g⁻¹FW)

样品 Samples	Put	Spd	Spm	Total	
BB52	对照 CK (100)	0.913±0.431 ^{Aa} (100)	0.411±0.276 ^{Aa} (100)	0.187±0.039 ^{Aa} (100)	1.511 (100)
	处理 Treatment (58.93)	0.538±0.055 ^{Bb} (58.93)	0.384±0.169 ^{Aa} (93.43)	0.055±0.002 ^{Bb} (29.41)	0.977 (64.66)
N23232	对照 CK (100)	0.610±0.082 ^{Aa} (100)	0.168±0.000 ^{Aa} (100)	0.030±0.003 ^{Aa} (100)	0.808 (100)
	处理 Treatment (65.74)	0.401±0.014 ^{Aa} (65.74)	0.124±0.013 ^{Aa} (73.81)	0.017±0.003 ^{Bb} (56.67)	0.542 (67.08)
Lee68	对照 CK (100)	0.427±0.049 ^{Aa} (100)	0.169±0.023 ^{Aa} (100)	0.058±0.007 ^{Aa} (100)	0.654 (100)
	处理 Treatment (74.00)	0.316±0.032 ^{Aa} (74.00)	0.146±0.001 ^{Aa} (86.39)	0.040±0.001 ^{Aa} (68.97)	0.502 (76.76)

注: A, B 表示 $P < 0.01$; a, b 表示 $P < 0.05$ 。括号内数字为相应对照的百分数。A and B show $P < 0.01$, a and b show $P < 0.05$. The numbers in the brackets are the percentages of the control.下同 The same below.

3.2 盐胁迫下大豆幼苗叶中 PAs 含量的变化

在盐胁迫下, 野生大豆 BB52 幼苗叶片 PAs 中 Spd 和 Spm 含量上升, 其中 Spd 上升极显著, 达到

40.00%, 但 Put 含量显著下降, 达到 23.48%, Put、Spd 和 Spm 三者总量也下降了 11.05%。与 BB52 相比, 栽培大豆 Lee68 和野大豆 N23232 幼苗叶 PAs 中, 除 Spd 含量未见明显变化外, Put、Spm 及三者总量上升。对 Lee68, 分别较对照上升了 31.08%, 150.00% 和 46.09%; 对 N23232, 分别较对照上升了 22.69%, 22.22% 和 18.68%(表 2)。

表 2 NaCl 胁迫下栽培和野生大豆幼苗叶中 PAs 含量的变化
Table 2 Change of PAs contents in leaves of *G. max* and *G. soja* seedlings under different NaCl stress(μmol·g⁻¹FW)

样品 Samples	Put	Spd	Spm	Total	
BB52	对照 CK (100)	0.115±0.014 ^{Aa} (100)	0.020±0.001 ^{Bb} (100)	0.043±0.003 ^{Aa} (100)	0.178 (100)
	处理 Treatment (76.52)	0.088±0.008 ^{Ab} (76.52)	0.028±0.001 ^{Aa} (140.00)	0.045±0.005 ^{Aa} (104.65)	0.161 (88.95)
N23232	对照 CK (100)	0.119±0.001 ^{Aa} (100)	0.027±0.002 ^{Aa} (100)	0.036±0.001 ^{Aa} (100)	0.182 (100)
	处理 Treatment (122.69)	0.146±0.012 ^{Aa} (122.69)	0.026±0.001 ^{Aa} (96.30)	0.044±0.003 ^{Aa} (122.22)	0.216 (118.68)
Lee68	对照 CK (100)	0.074±0.006 ^{Aa} (100)	0.021±0.003 ^{Aa} (100)	0.020±0.001 ^{Bb} (100)	0.115 (100)
	处理 Treatment (131.08)	0.097±0.009 ^{Aa} (131.08)	0.021±0.001 ^{Aa} (100.00)	0.050±0.002 ^{Aa} (250.00)	0.168 (146.09)

3.3 盐胁迫对大豆幼苗根、叶 Put/PAs 和 (Spd + Spm)/Put 值的影响

盐胁迫下 BB52、Lee68 和 N23232 幼苗根中 (Spd + Spm)/Put 值较其对照分别增加了 24.58%、10.71% 和 8.31%, 增加的幅度与其耐盐性强弱呈正相关, 即 BB52 增加幅度最大, Lee68 次之, N23232 增加最小。就叶中 (Spd + Spm)/Put 值而言, 耐盐性较强的 BB52、Lee68 分别为对照的 150.46% 和 132.07%, 而盐敏感的 N23232 却下降了, 仅为对照的 92.13%。在盐胁迫下, 除 N23232 叶 Put/PAs 值略有增加外, 其余各样品根、叶中均有所降低, 且降低幅度与耐盐性强弱表现正相关趋势(表 3)。

表 3 NaCl 胁迫下栽培和野生大豆幼苗根、叶中 Put/PAs 和 (Spd + Spm)/Put 值的变化

Table 3 Change of Put/PAs and (Spd + Spm)/Put ratios in roots and leaves of *G. max* and *G. soja* seedlings under NaCl stress

样品 Samples		根 Root		叶 Leaf	
		Put/PAs	(Spd + Spm)/Put	Put/PAs	(Spd + Spm)/Put
BB52	对照 CK (100)	0.604 (100)	0.655 (100)	0.646 (100)	0.549 (100)
	处理 Treatment (91.13)	0.551 (91.13)	0.816 (124.58)	0.546 (84.60)	0.826 (150.46)
	N23232	对照 CK (100)	0.755 (100)	0.325 (100)	0.654 (100)
N23232	处理 Treatment (98.00)	0.740 (98.00)	0.352 (108.31)	0.676 (103.38)	0.480 (92.13)
	Lee68	对照 CK (100)	0.653 (100)	0.532 (100)	0.643 (100)
Lee68	处理 Treatment (96.41)	0.629 (96.41)	0.589 (110.71)	0.577 (89.73)	0.733 (132.07)

3.4 盐胁迫对大豆幼苗根、叶多胺氧化酶(PAO)活性的影响

在盐胁迫下,各材料幼苗根、叶中 PAO 活性均上升,其中盐敏感的 N23232 上升幅度最大,较其对照分别上升了 56.15% 和 72.56%,耐盐性较强的栽培大豆 Lee68 和野生大豆 BB52 上升幅度较小,较其对照分别上升了 35.32%、3.27% 和 52.83%、43.03% (图 1)。

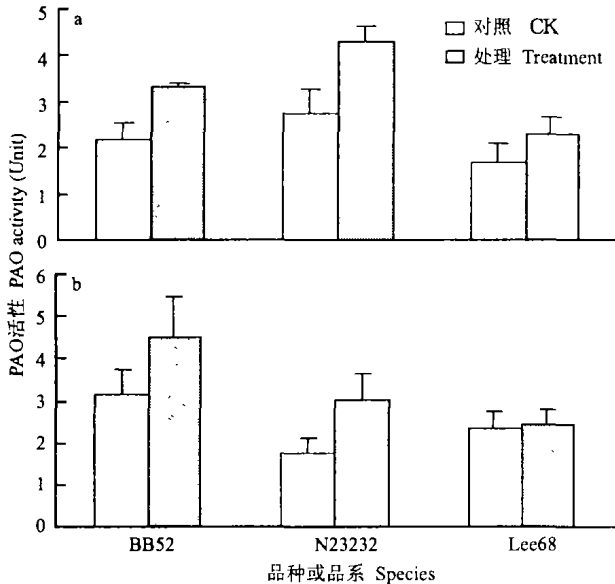


图 1 NaCl 胁迫对大豆幼苗根(a)和叶(b)多胺氧化酶(PAO)活性的影响

Fig. 1 Effects of NaCl stress on the activities of PAO in roots (a) and leaves (b) of soybean seedlings.

4 讨 论

在 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫 2 d 时,供试野生大豆 BB52、N23232 和栽培大豆 Lee68 幼苗根中 Put、Spd、Spm 及其总量和 Put/PAs 值均有下降,但 (Spd + Spm)/Put 值均有上升,其中耐盐 BB52 根中 Put 含量、PAs 总量及 Put/PAs 值下降幅度最大,同时 (Spd + Spm)/Put 值上升幅度也最大(表 1、表 3)。对于叶片而言,盐胁迫下, BB52 Put、PAs 总量及 Put/PAs 值均下降,但 Spd、Spm 及 (Spd + Spm)/Put 值均明显上升, Lee68 和 N23232 叶中 Put、Spm、PAs 总量及 (Spd + Spm)/Put 值均明显上升, Spd 含量变化不明显, N23232 Put/PAs 值略有增加(表 2、3)。盐胁迫下耐盐野生大豆 BB52 种群幼苗体内 Put、Spd、Spm 及 PAs 总量的变化趋势与江行玉等^[7]在盐生植物——滨藜,及朱速松和刘友良^[22]在耐盐性较强的大麦品种——鉴 4 中的结果基本相同,反映了盐生植物和耐盐淡土植物在盐胁迫下 PAs 水平变化方面的相似性。此外,还不难看出,对

照和盐胁迫处理的供试大豆 3 种材料根中多胺总量较叶中明显要高,3 种 PAs 中都是以 Put 为主要组分, Put/PAs 和 (Spd + Spm)/Put 值的变化都主要由 Put 的升降所决定。李子银等^[9]报道, Put 向 Spd 和 Spm 转化有利于增强水稻耐盐性。在盐胁迫下, BB52 种群幼苗根、叶中 Put 含量和 Put/PAs 值明显降低,并维持较高的 (Spd + Spm)/Put 值。这对于减轻盐胁迫下 Put 的毒害作用都是极为有利的^[17]。

在盐胁迫下,供试 3 种材料幼苗根和叶片中 PAO 活性均上升,其中盐敏感的野生大豆 N23232 上升幅度最大(图 1)。陈如凯和张木清^[1]也发现,甘蔗在 NaCl 胁迫下,不耐盐品种 PAO 活性增加幅度高于耐盐品种。本试验结果表明,生境和耐盐性不同的野生和栽培大豆中也表现类似趋势。PAO 催化细胞内 PAs 的氧化降解,从而部分地调节植物体内的 PAs 水平,这被认为是植物 PAO 的重要生理功能。在 Put、Spd 和 Spm 中, PAO 的最适底物因植物种类的不同而有差异,如大麦、水稻、满江红等 PAO 的最适底物分别为 Spm、Put 和 Spd^[6]。就豆科植物而言,其 PAO 的最适底物一般为 Put^[5]。Put 也是大豆根、叶中的主要多胺组分,根据盐胁迫下供试的野生和栽培大豆幼苗体内 Put、Spd、Spm、PAs 总量及 PAO 活性的变化(表 1、2),我们赞同 DiTomaso 等^[2]提出的 Put 毒害作用机制的解释,即植物细胞壁 PAO 催化 Put 氧化降解所产生的氨基醛、 H_2O_2 、自由基等物质积累至一定量时,即会损伤质膜,致使细胞内物质外渗,最终导致组织衰老、坏死。盐胁迫下耐盐野生大豆 BB52 幼苗体内 Put 水平明显降低及 PAO 活性升幅较小,可能是其具备强耐盐性的主要原因之一。当然,盐胁迫下 BB52 幼苗体内 Put 水平的下降不仅与 PAO 活性上升有关,可能还涉及其合成过程受阻或向结合态转化。此外, PAO 催化 Put 氧化降解所产生的 H_2O_2 等物质对细胞壁的木质化及抵御病原微生物,增强抗病性有重要作用。 H_2O_2 还具有感受环境胁迫和信号转导的作用^[13,14]。有关盐胁迫下耐盐野生大豆 BB52 植株体内 Put 代谢和 H_2O_2 含量如何变化及其与耐盐性的关系,则有待今后进一步研究。

参考文献

- 1 Chen R-K (陈如凯), Zhang M-Q (张木清). 1995. Studies on the saline-tolerance physiology in sugarcane (*S. officinarum* L.) IV. Effect of NaCl stress on polyamine metabolism. *Acta Agron Sin* (作物学报), 21(4): 479~484 (in Chinese)
- 2 DiTomaso MJ, Shaff JE, Kochian LV. 1989. Putrescine-induced wounding and its effects on membrane integrity and ion transport

- process in roots of intact corn seedlings. *Plant Physiol*, **90**:988~995
- 3 Galston AW, Kaur-Sawhney R. 1990. Polyamines in plant physiology. *Plant Physiol*, **94**:406~410
 - 4 Gong Y-H(龚月桦), Wang J-R(王俊儒), Jing J-H(荆家海). 1998. Polyamines uptake and transport in higher plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **34**(1):64~68(in Chinese)
 - 5 He S-G(何生根), Huang X-L(黄学林), Fu J-R(傅家瑞). 1997. PAO activities in several plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **33**(6):432~434(in Chinese)
 - 6 He S-G(何生根), Huang X-L(黄学林), Fu J-R(傅家瑞). 1998. Polyamine oxidase in plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **34**(3):213~218(in Chinese)
 - 7 Jiang X-Y(江行玉), Zhao K-F(赵可夫), Dou J-X(窦君霞), et al. 2001. The effects of exogenous spermidine and dicyclohexylamine on the content of endogenous polyamines and salt resistance of *Atriplex* under NaCl stress. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **37**(1):6~9(in Chinese)
 - 8 Kong C-H(孔垂华), Hu F(胡飞), Xie H-L(谢华亮), et al. 1996. Effect of supplemented polyamines on the germination and early growth of rice and their adsorption in soil. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **7**(4):377~380(in Chinese)
 - 9 Li Z-Y(李子银), Zhang J-S(张劲松), Chen S-Y(陈受宜). 1999. Cloning and expression of salt stress responded genes and its chromosome orientation in *Oryza sativa*. *Sci Chin* (Series C)(中国科学·C辑), **29**(6):561~570(in Chinese)
 - 10 Lin W-X(林文雄), Lin Q-H(林群慧), Liang Y-Y(梁义元), et al. 1996. Influence of environmental condition on genetic performance of cytoplasmic effects and nucleocytoplasmic interactions in hybrid rice IV. Effect of sterile cytoplasm on polyamine metabolism in hybrid rice under different application rates of nitrogen. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **7**(1):33~38(in Chinese)
 - 11 Lin W-X(林文雄), Wu X-C(吴杏春), Liang K-J(梁康迳), et al. 2002. Effect of enhanced UV-B radiation on polyamine metabolism and endogenous hormone contents in rice (*Oryza sativa* L.). *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(7):807~813(in Chinese)
 - 12 Lu JM, Liu YL, Hu B, et al. 1999. Salt glands in *Glycine soja* L. China. *Chin Sci Bull*, **44**(10):923~926
 - 13 Lum HK, Butt YKC, Lo SCL. 2002. Hydrogen peroxide induces a rapid production of nitric oxide in mung bean (*Phaseolus aureus*). *Biol Chem*, **6**(2):205~213
 - 14 Maria VB, Lorenzo L. 1999. Is nitric oxide toxic or protective? *Trends Plant Sci*, **4**(8):299~300
 - 15 Shi M-T(施木田), Chen R-K(陈如凯). 2004. Effects of zinc and boron nutrition on balsam pear (*Momordica charantia*) yield and quality, and polyamines, hormone, and senescence of its leaves. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **15**(1):77~80(in Chinese)
 - 16 Smith TA. 1985. The di-and polyamine oxidase of higher plants. *Biochem Trans*, **13**:319~322
 - 17 Wang P-H(汪沛洪). 1990. Enzymes of polyamine metabolism and stress response in plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), (1):1~7(in Chinese)
 - 18 Yu B-J(於丙军), Luo Q-Y(罗庆云), Liu Y-L(刘友良). 2003. Re-transportation of ions in *Glycine soja* and *Glycine max* seedlings under NaCl stress. *J Plant Physiol Mol Biol* (植物生理与分子生物学学报), **29**(1):39~44(in Chinese)
 - 19 Yu B-J(於丙军), Luo Q-Y(罗庆云), Cao A-Z(曹爱忠), et al. 2001. Comparison of salt tolerance and ion effect in cultivated and wild soybean. *J Plant Res Environ*, **10**(1):25~29(in Chinese)
 - 20 Zhao F-G(赵福庚), Liu Y-L(刘友良). 2000. Metabolism and regulation of uncommon polyamines in high plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **36**(1):1~6(in Chinese)
 - 21 Zhao FG, Sun C, Liu YL, et al. 2000. Effects of salinity stress on the levels of covalently and noncovalently conjugated polyamines in plasma membrane and tonoplast isolated from barley seedlings. *Acta Bot Sin*, **42**(9):920~926
 - 22 Zhu S-S(朱速松), Liu Y-L(刘友良). 1996. Mechanism of barley salt tolerance regulated by 6-benzyladenine. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), **19**(3):12~16(In Chinese)

作者简介 於丙军,男,1970年9月生,理学博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事植物逆境生理与分子生物学的研究和植物生理学、植物化学调控等课程的教学工作,已在国内外核心期刊上发表论文20篇。Tel:025-4395347。E-mail:bjyu@njau.edu.cn
