

8  
57-63

# 甘蔗愈伤组织耐盐性研究: 耐盐愈伤组织的筛选及脯 氨酸、还原糖含量变化

5566.101

李春瑶 黎泳珊 陈高琼 何爱民 黄玉环  
(广西师范大学生物系细胞研究室 桂林 541004)

**摘要** 在附加不同浓度 NaCl 及 2.4-D 2mg/L 的 MS 培养基上, 甘蔗愈伤组织表现出不同的生长效应。培养基中 NaCl 浓度低时 (1% 以下), 甘蔗愈伤组织表现为适应性生长; 而在高 NaCl 浓度时 (2% 以上), 愈伤组织生长表现出盐害特征。脯氨酸、还原糖测定结果显示, 在盐适应情况下, 甘蔗愈伤组织中的脯氨酸含量较高, 还原糖含量较低; 在盐害情况下则相反。

**关键词** 甘蔗愈伤组织 NaCl 脯氨酸 还原糖

## 1 材料与方法

1.1 **材料:** 甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.), 品种桂糖 11 号愈伤组织。愈伤组织诱导及培养方法见李春瑶等<sup>[4]</sup>。

### 1.2 愈伤组织的继代培养

培养基: MS+2.4-D 2mg/L+蔗糖 3%+琼脂 0.7%。每 20 天继代一次, 培养条件: 黑暗, 温度 25℃, 湿度 60%~80%。

### 1.3 盐胁迫处理

在继代培养基中加入不同浓度的 NaCl, 构成不同浓度梯度的盐胁迫培养基。

### 1.4 脯氨酸 (pro) 含量测定

按照朱广廉的方法<sup>[5]</sup>进行。

### 1.5 还原糖含量测定

采用“3,5-二硝基水杨酸法”<sup>[6]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度的盐胁迫下甘蔗愈伤组织的生长情况。

将甘蔗愈伤组织转入 NaCl 浓度分别为 (%): 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 的 MS 培养基上培养, 观察它们在这几种培养基上的生长状况, 结果发现, 在培养的起始两天, 所有培养基上的愈伤组织均未出现明显变化。从第三天开始, 在含低盐浓度 (1% 以下) 培养基上的愈伤组织表现为旺

盛生长,不断产生新的愈伤组织。产生的愈伤组织颜色淡黄、颗粒状、外表干爽。与对照培养基(即NaCl为0)上的愈伤组织相比没有显著差别。这些愈伤组织在含NaCl培养基上继代培养了两个多月,仍然生长良好,未表现出盐害特征。而培养在NaCl浓度较高(2%以上)培养基上的愈伤组织,生长缓慢,且颜色逐渐暗淡、苍白,表面呈水渍状。这种情形随培养基中NaCl浓度升高而加剧,其中含NaCl浓度为4%、8%培养基上的愈伤组织表现尤为突出,仅培养一周盐害症状就很明显。而NaCl浓度为2%培养基上的愈伤组织要一个后才表现出盐害,且症状较轻。

这一结果表明,在NaCl浓度低于1%的情况下,甘蔗愈伤组织表现为适应性生长,未表现盐害特征;在NaCl浓度高于2%时,甘蔗愈伤组织不能进行适应性生长而表现出盐害。

我们将耐NaCl浓度为0.5%培养基上的愈伤组织继代维持了一年多,仍然生长良好,并保持旺盛的胚胎发生能力,在无激素的培养基上能分化出绿苗。

## 2.2 不同浓度的盐胁迫处理下甘蔗愈伤组织的脯氨酸(pro)及可溶性糖含量变化

### 2.2.1 pro含量

测定了不同浓度NaCl胁迫处理7天后甘蔗愈伤组织中的pro含量,结果见图1所示:

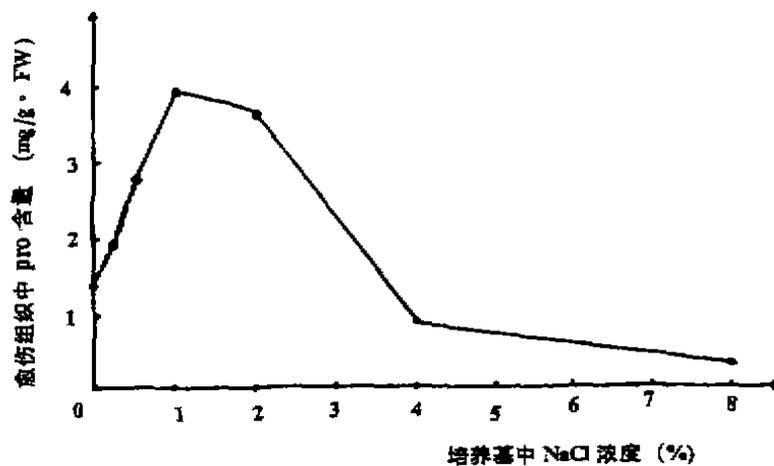


图1 不同浓度的NaCl处理下甘蔗愈伤组织中pro含量

上图曲线说明,在低浓度的NaCl(0%~1%)胁迫下,愈伤组织中的pro含量随胁迫强度加大而升高,当胁迫超过一定界限(2%)时,愈伤组织中的pro含量下降,胁迫强度越大,愈伤组织中的pro含量越低。这一结果与愈伤组织在NaCl胁迫下的生长情况是一致的,即在胁迫强度低时,愈伤组织能适应生长,pro含量随胁迫加强而升高;在胁迫强度高时,愈伤组织不能适应生长,表现为强烈的盐害,这时,愈伤组织中的pro含量亦随盐害加深而下降。

### 2.2.2 还原糖含量

图2结果表明,培养7天时,在低NaCl浓度的胁迫下,甘蔗愈伤组织中还原糖量无显著变化,与对照差不多;而在NaCl胁迫强度较大时,还原糖量显著上升,比对照的高达4~5倍。

这一结果说明，在盐适应的愈伤组织中还原糖量是稳定的，而在盐害情况下，愈伤组织的还原糖量表现为增多。

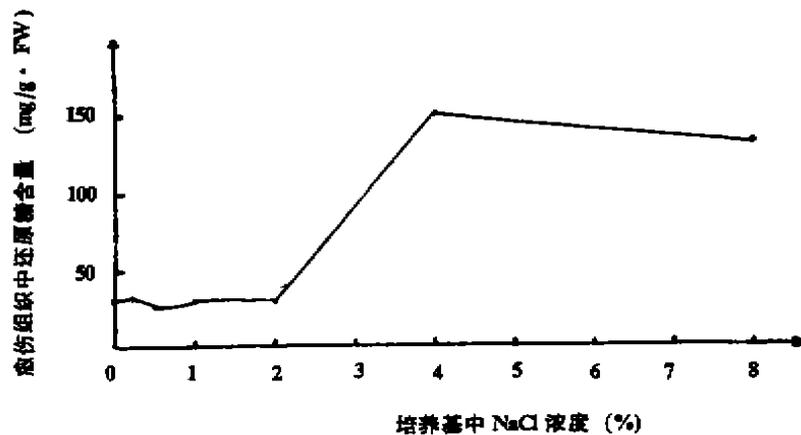


图 2 不同浓度的 NaCl 处理下甘蔗愈伤组织还原糖含量

### 2.3 盐害及盐适应下甘蔗愈伤组织内 pro 及还原糖含量变化

比较了愈伤组织生长表现为适应的 NaCl 1% 培养基及愈伤组织生长表现为盐害的 NaCl 4% 培养基上愈伤组织培养不同时间 [0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 (单位: 天)] 的 pro 及还原糖含量变化，结果如下：

2.3.1 脯氨酸 (pro) 含量变化，见图 3。

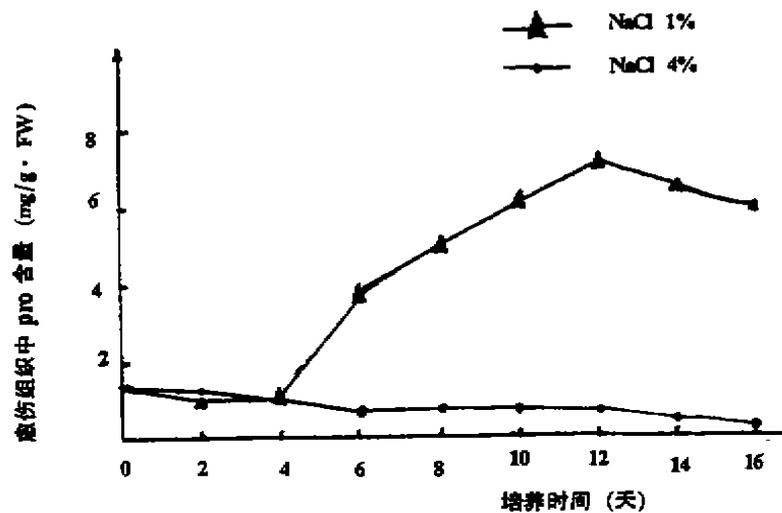


图 3 NaCl 1% 及 4% 胁迫不同时间下甘蔗愈伤组织中 pro 含量

上图结果说明、含 NaCl 浓度为 1% 的培养基上, 甘蔗愈伤组织中的 pro 含量随培养时间延长而渐渐上升, 当培养到 12 天时达最高峰, 然后缓缓下降并维持在一个较高的水平。而在含 NaCl 浓度为 4% 的培养基上, 愈伤组织的 pro 含量则一直处于下降趋势, 它们从一开始就表现为强烈的盐害, 随盐害程度加深, pro 含量不断下降, 到第 16 天时, pro 含量仅为对照的 1/4, 为 NaCl 1% 上的 1/17。这一结果说明, 盐适应下愈伤组织内的 pro 含量较高, 而在盐害的愈伤组织中, pro 含量则很低。

### 2.3.2 还原糖含量

结果如图 4 所示

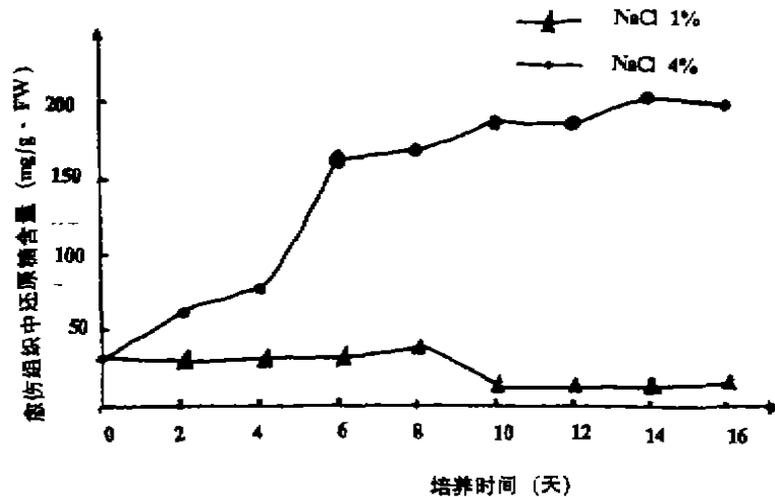


图 4 NaCl 1% 及 4% 胁迫不同时间下甘蔗愈伤组织还原糖含量

从图 4 看出, 随培养时间延长, 在 NaCl 1% 培养基上的愈伤组织, 还原糖含量并不增加, 反而在培养的第 8 天后略有下降。而在 NaCl 4% 培养基上的愈伤组织, 还原糖量随盐害时间延长、盐害加剧而上升。

## 3 讨论

在盐胁迫情况下, 植物会产生一定的反应, 其表现为低盐浓度下的适应和高盐浓度下的伤害。实验结果也说明了这一点。当培养其中 NaCl 浓度低于 1% 时, 愈伤组织能适应性地正常生长, 而在 NaCl 浓度超过 2% 时, 愈伤组织即表现出盐害特征。在盐适应情况下, 愈伤组织中 pro 含量升高、还原糖含量变化不大。在盐害情况下, pro 含量下降, 还原糖量则大大增加。可以认为, pro、还原糖量的变化可作为判断甘蔗愈伤组织盐适应和盐害的生理指标。

盐适应下 pro 的大量累积是有积极作用的<sup>[7,8]</sup>, 它可以作为渗透调节物, 在盐胁迫下降低细胞的水势, 避免细胞脱水。同时, pro 可以保护细胞中的生物聚合物的结构, 使之不被 NaCl 破坏, 并能维持其完整的水合范围<sup>[9]</sup>, 另外, pro 具有很高的溶解性, 且它对各种酶的抑制作用很

低, 这样可以扩大细胞的溶解容积, 从而降低细胞质液中盐的浓度, 减轻盐的胁迫作用。

植物对盐胁迫的适应能力是有限的, 当胁迫强度大到一定程度时, 就会由于渗透效应和离子毒害作用使得植物或组织受害。结果也表明, 在 NaCl 浓度超过 2% 时, 甘蔗愈伤组织生长表现为伤害作用, 其 pro 含量很低。这可能是由于高盐抑制了与 pro 合成有关的酶的活性所致<sup>[2]</sup>。而盐害情况下还原糖的大量增加则可能是由于大分子的碳水化合物降解而得。

#### 4 参考文献

- 1 Flowers. the mechanism of salt tolerance in halophytes. *Ann. Rev. of plant physiol.*, 1977, 28:89 ~ 121.
- 2 赵可夫. 盐分过多对植物的伤害作用和伤害机理. 曲阜师院学报 (植物抗盐生理专刊), 1984:5 ~ 22.
- 3 周荣仁. 植物组织培养在选择耐盐植物方面的研究概况. 曲阜师院学报 (植物抗盐生理专刊), 1984:63 ~ 83.
- 4 李春瑶等. 甘蔗幼叶切段培养中的体细胞胚胎发生. 广西植物, 1989, 9(3):2433 ~ 246.
- 5 朱广廉等. 植物体内游离脯氨酸的测定. 植物生理学通讯, 1983, (1):35.
- 6 袁晓华, 杨汉中. 植物生理生化实验, 高等教育出版社, 1983, PP6 ~ 8.
- 7 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累各及其可能意义. 植物生理学通讯, 1984, (1):15 ~ 21.
- 8 赵可夫. 植物的抗盐性和抗盐机理. 曲阜师院学报 (植物抗盐生理专刊), 1984:23 ~ 46.

## Study on Salt-Tolerance of Sugarcane Callus — Selection of Salt-Tolerance Callus and Changes of Proline, Reducing Sugar Level

*Li Chunyao Li Yongshan Chen Gaoqiong He Aiming Huang Yuhuan*

(Department of Biology, Guangxi Normal University, Guilin 541004)

**Abstract** On MS basal medium supplemented with 2 mg/L 2,4-D and different concentrations of NaCl, sugarcane callus shows different growth effects. As the concentrations of NaCl in medium are low (<1%), the callus appears in adaptive growth and as the concentrations of NaCl are high (>2%), the callus is to be salt-injured. The levels of proline and reducing sugar of callus were measured and the results shows that the salt-adapted callus has a high level proline and low level reducing sugar, the salt-injured callus has a low level proline and high level reducing sugar.

**Key words** Sugarcane callus; NaCl; Proline; Reducing sugar