

PEG胁迫对大豆分枝期生理特性的影响

曹 帅 包乌日娜 刘 鹏

(内蒙古民族大学农学院,通辽 028042)

摘要:为鉴定分枝期不同大豆品种的耐旱性,以2个杂交大豆品种和2个常规品种大豆为材料,以高分子聚乙二醇6000(PEG6000)作为水分胁迫渗透剂,通过测量叶片叶绿素、脯氨酸、可溶性糖、丙二醛含量和谷胱甘肽还原酶活性,探讨不同PEG浓度(0、5%、10%、15%)对分枝期(30d苗龄)大豆生理特性的影响。结果表明:干旱胁迫导致4个品种大豆叶片丙二醛含量上升、可溶性糖含量和脯氨酸含量下降;吉育72和杂交豆2号叶绿素含量和谷胱甘肽还原酶活性均下降,其余2个品种表现出相反趋势。根据干旱胁迫后4个品种大豆的表型特征和对上述5种生理指标的综合反应,可知分枝期杂交豆5号和吉育88比杂交豆2号和吉育72表现出更强的耐干旱胁迫能力。

关键词:大豆; PEG胁迫; 生理特性

干旱对作物生长发育是一种环境胁迫,特别是在生殖阶段受到干旱影响时,可导致粮食产量大幅度下降,通常下降30%~40%,在极度干旱胁迫下甚至绝收^[1]。近年来随着全国气候变化,降雨减少、地下水位持续下降,水资源严重不足,导致干旱面积和频率都在不断上升,这些因素严重影响并制约着农业的可持续发展^[2]。当作物在干旱环境下生长,自身会做出对生长发育等方面的适应性反应,以此来适应干旱环境^[3]。已有学者对大豆种质资源的筛选和鉴定的方法进行研究^[4]。董兴月等^[5]、杨小环等^[6]研究表明,大豆叶片游离脯氨酸和可溶性糖含量在水分胁迫下均呈升高趋势;王敏等^[7]、纪展波等^[8]研究表明,丙二醛含量和大豆根系活性在水分胁迫下呈显著升高趋势。植物种类不同,对干旱的适应能力不同,即使同种作物的不同品种,对干旱的反应也存在差异^[9],在追求高产、优质、高效、生态、安全等多个目标协同发展的同时,筛选耐旱作物种质资源^[10],提高干旱情况下作物的产量和品质一直是科研人员重要的研究方向。

大豆 [*Glycine max* L.] 原产于中国,是最重要的经济作物之一。它不仅是人类获取蛋白质、油脂和微量营养素的重要来源,而且还是生物柴油生产最

具有吸引力的作物^[11]。大豆生长易受极端温度、干旱、养分缺乏和土壤酸度等不利环境因素的影响,这些因素构成了大豆生产的主要制约因素^[12-13]。大豆在整个生育期对水分都极其敏感,因此耐旱大豆种质的筛选在栽培和育种领域的研究都具有重要意义。本研究以4个大豆品种为试验材料,在大豆分枝期测定叶片游离脯氨酸和丙二醛含量等指标,分析大豆对干旱胁迫的生理生化反应,以期为筛选和鉴定抗旱品种提供合理依据。

1 材料与方法

1.1 材料 试验材料选用由吉林省农业科学院大豆研究所提供的4个大豆品种:杂交豆2号、杂交豆5号、吉育88和吉育72。

1.2 试验设计 试验在内蒙古民族大学农场防雨棚中进行。挑选籽粒饱满、大小相似的种子,用5%的次氯酸钠消毒后,用无菌水冲洗3次。2017年5月17日将种子种植于直径30cm、高19cm、桶底带有直径1cm圆孔的花盆中,用草炭土、珍珠岩、蛭石(体积比4:3:3)的混合物为基质。每盆种植7株,干旱胁迫前将高分子聚乙二醇6000(PEG6000)进行高温灭菌处理后,密封放好待第2天使用。于分枝期(播种后30d)开始干旱胁迫处理,4个处理分别为:CK(营养液)、轻度水分胁迫(营养液+5%的PEG6000)、中度水分胁迫(营养液+10%的PEG6000)、重度水分胁迫(营养液+15%的PEG6000)。处理后第10天开始取样,选取长势一

基金项目:内蒙古自治区科技计划项目2017;内蒙古自治区饲用作物工程技术研究中心开放课题(MDK2017004);通辽市与内蒙古民族大学合作项目(SXZX2017006)

通信作者:刘鹏

致、节位一致、生长健壮的幼叶测定各项指标。采用完全随机排列设计,3次重复。

1.3 测定项目及方法 叶绿素含量的测定 用 SPAD-502 叶绿素仪在分枝期(6月20日)定点选取叶片,测定不同叶位的 SPAD 值。在每个叶片的前、中、后各测 1 次,最后取平均值。游离脯氨酸(Pro)含量测定 参照李合生等^[14]的方法稍加改良。称取 0.5g 叶片放入具塞试管,加 3% 磺基水杨酸 5mL,于沸水浴中提取 10min,离心,取上清液 2mL 加入冰醋酸 2mL、酸性茚三酮 2mL,沸水浴显色 30min,520nm 波长处比色测定。可溶性糖含量的测定 采用蒽酮比色法^[15]。丙二醛(MAD)含量的测定 采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[16]。

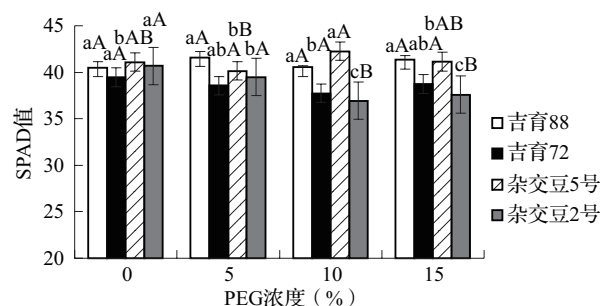
1.4 数据统计分析 采用 Excel 2003 和 DPS16.05 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 PEG 胁迫对大豆叶片 SPAD 值的影响 图 1 所示,与正常供水(CK)相比,随着 PEG 浓度增加,吉育 88、吉育 72 和杂交豆 2 号的叶绿素含量均先下降再上升,但变化幅度很小,从最高值到最低值分别降低了 2.63%、2.65% 和 6.42%;杂交豆 2 号在轻度干旱处理下 SPAD 值极显著高于中度和重度水分胁迫处理($P<0.01$)。杂交豆 5 号 SPAD 值在不同浓度干旱下变化趋势为先升高再降低,在中度干旱情况下,SPAD 值极显著高于轻度胁迫($P<0.01$),显著高于重度水分胁迫($P<0.05$)。吉育 72 和杂交豆 2 号在轻度、中度和重度干旱下 SPAD 值与对照相比分别下降 2.33%、4.59%、1.89% 和 3.04%、10.11%、8.16%。在轻度干旱胁迫下,4 个品种大豆 SPAD 值大小依次为吉育 88>杂交豆 5 号>杂交豆 2 号>吉育 72;中度胁迫下 SPAD 值大小依次为杂交豆 5 号>吉育 88>吉育 72>杂交豆 2 号;重度干旱胁迫下 SPAD 值大小依次为吉育 88>杂交豆 5 号>吉育 72>杂交豆 2 号。经上述分析得出,干旱胁迫对吉育 88 和杂交豆 5 号的 SPAD 值影响较小,说明这 2 个品种对于干旱反应不敏感,对水分胁迫有较强的耐受性。

2.2 PEG 胁迫对大豆叶片脯氨酸含量的影响 图 2 所示,在不同浓度水分胁迫下,吉育 72 叶片脯氨酸含量变化趋势为先下降后上升,其他 3 个品种大豆叶片脯氨酸含量变化趋势均为下降—上升—下

降。在正常供水情况下,吉育 88 叶片脯氨酸含量极显著高于轻度水分胁迫($P<0.01$),显著高于重度水分胁迫($P<0.05$);吉育 72 和杂交豆 2 号叶片脯氨酸含量在不同干旱胁迫处理下均极显著低于对照($P<0.01$);杂交豆 5 号叶片脯氨酸含量在不同干旱胁迫处理下均显著低于对照($P<0.05$)。且吉育 88 叶片脯氨酸含量在各处理下均高于吉育 72 和杂交豆 2 号,杂交豆 5 号叶片脯氨酸含量除在重度胁迫(PEG 浓度 15%)处理下低于吉育 72 外,其余各处理均与吉育 88 表现出相同趋势,因此吉育 88 和杂交豆 5 号具有较强耐旱性。



不同小写字母表示在 5% 水平上差异显著;不同大写字母表示在 1% 水平上差异显著,下同

图 1 不同处理对大豆叶片 SPAD 值的影响

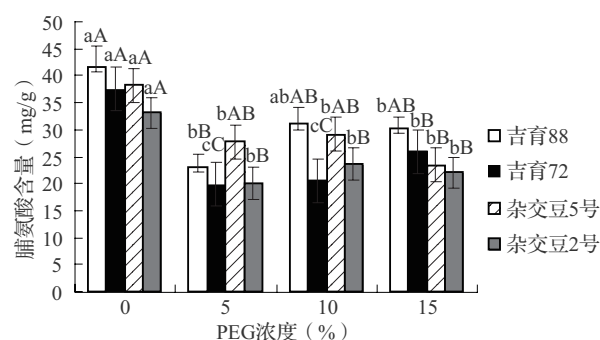


图 2 不同处理对大豆叶片脯氨酸含量的影响

2.3 PEG 胁迫对大豆叶片可溶性糖含量的影响

由图 3 可知,在不同浓度 PEG 胁迫下,吉育 72 和杂交豆 2 号叶片可溶性糖含量均低于对照,吉育 72 和杂交豆 2 号在重度胁迫处理下叶片可溶性含量达到最低值,相比对照分别下降 7.4% 和 38.22%。随着胁迫浓度的增加,杂交豆 5 号叶片可溶性糖含量变化趋势为先上升后下降;吉育 88 叶片可溶性糖含量变化趋势为先下降再上升。在不同浓度 PEG 模拟干旱胁迫处理下吉育 88 和杂交豆 5 号叶片可溶性

糖含量均高于吉育 72 和杂交豆 2 号。可溶性糖是一种细胞渗透调节物质,含量高有助于调节细胞内的渗透压,延缓细胞由于受到干旱等逆境胁迫而导致的大量失水。上述分析得出,杂交豆 5 号和吉育 88 抵御干旱能力较强。

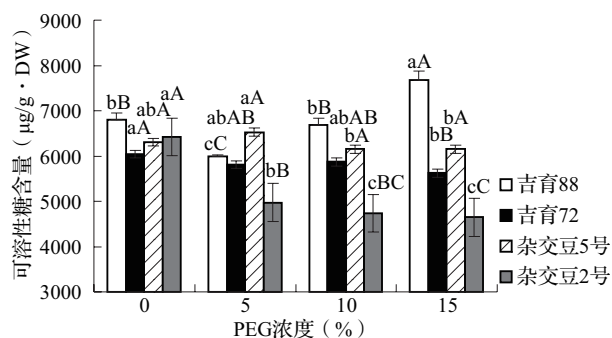


图3 不同处理对大豆叶片可溶性糖含量的影响

2.4 PEG 胁迫对大豆叶片丙二醛含量的影响 如图 4 所示,4 个大豆品种在不同浓度 PEG 胁迫下,叶片丙二醛含量均高于对照组。杂交豆 2 号在重度胁迫处理下叶片丙二醛含量高达 88.67nmol/g,比吉育 88、吉育 72 和杂交豆 5 号丙二醛含量分别高出 63.03%、35.04% 和 54.93%。吉育 72 在轻度、中度和重度干旱胁迫下叶片丙二醛含量比吉育 88 分别高 9.64%、21.23% 和 17.39%,比杂交豆 5 号分别高 31.63%、15.30% 和 3.32%。丙二醛含量过高易使细胞膜受到伤害,说明吉育 88 和杂交豆 5 号对干旱胁迫反应不敏感。

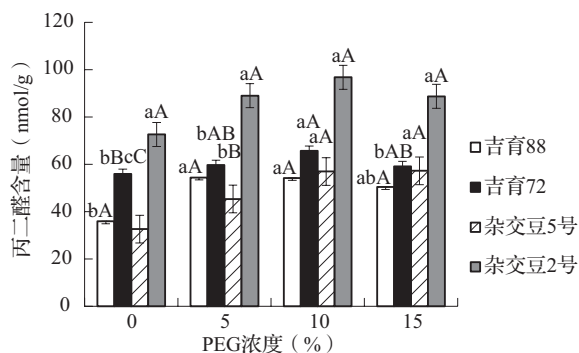


图4 不同处理对大豆叶片丙二醛含量的影响

2.5 PEG 胁迫对大豆叶片谷胱甘肽还原酶活性的影响 如图 5 所示,在干旱胁迫下,杂交豆 2 号谷胱甘肽还原酶活性迅速下降,且在轻度和重度胁迫下极显著低于对照组 ($P < 0.01$),并在重度干旱胁迫下

谷胱甘肽还原酶活性达到最低值 $0.049 \mu\text{mol}/\text{min}$,与对照相比下降 70%。杂交豆 5 号和吉育 88 在不同浓度 PEG 处理下,谷胱甘肽还原酶活性变化趋势均为上升—下降—上升,且均高于对照。吉育 88 在重度水分胁迫处理下谷胱甘肽还原酶活性最高为 $0.10 \mu\text{mol}/\text{min}$,比对照高 17.14%。吉育 72 除在轻度干旱胁迫处理下谷胱甘肽还原酶活性高于对照外,在中度和重度水分胁迫下均低于对照,在中度胁迫下达到最低值 $0.058 \mu\text{mol}/\text{min}$,相比对照下降 41.64%。因为谷胱甘肽还原酶是一种保护细胞免受氧化应激损害的酶。在相同程度的干旱胁迫下,吉育 88 和杂交豆 5 号细胞氧化损伤较小,属于耐旱型大豆品种。

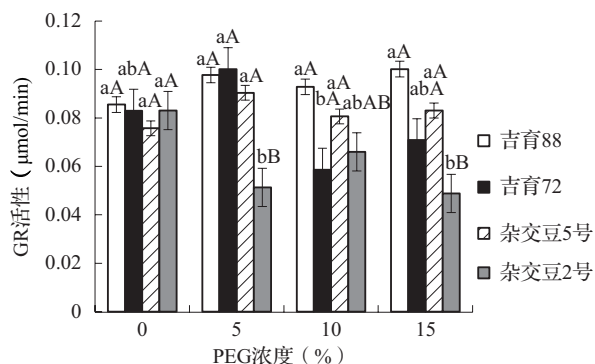


图5 不同处理对大豆叶片谷胱甘肽还原酶活性的影响

3 结论与讨论

植物进化了复杂的机制来感知和适应水分亏缺。例如,植物可以通过最大限度地吸收水分,尽量减少水分损失或积累一些渗透调节物质来应对压力,从而避免干旱^[1]。叶绿素相对含量(SPAD 值)、可溶性糖含量、脯氨酸含量、丙二醛含量和谷胱甘肽还原酶活性是表征作物耐旱水平最主要的生理指标。有关干旱胁迫对作物生理指标的影响已经有一些阐述。叶绿素是植物的光合色素,主要体现出植物对光能利用率^[17]。可溶性糖和脯氨酸含量都是细胞内重要的渗透调节物质,可溶性糖和脯氨酸含量高有利于调节细胞内的渗透压,延缓细胞由于受到干旱等逆境胁迫而导致的大量失水^[18]。当植物遇到逆境胁迫时,通常游离脯氨酸含量会大量积累^[19]。卢琼琼等^[20]研究干旱胁迫对大豆苗期光合生理特性的影响得出水分胁迫处理组叶片中的脯氨酸含量较对照都显著增加。本研究表明大豆分枝期

叶片脯氨酸含量均低于对照,这与卢琼琼等^[20]研究结果恰好相反,还需进一步试验论证。丙二醛作为膜脂氧化的最终产物,它的积累会严重地损伤生物膜结构^[21]。芮海英等^[22]研究了苗期干旱胁迫对不同大豆品种叶片保护酶活性及丙二醛含量的影响,发现随着干旱胁迫时间的延长MDA含量均有积累。本研究表明大豆干旱胁迫后丙二醛含量均高于对照,与前人研究结果一致。谷胱甘肽还原酶活性可以有效地保护细胞免受氧化应激损坏^[23],张腾国等^[24]研究了10%的PEG模拟干旱胁迫下油菜谷胱甘肽还原酶活性的变化,发现2种油菜谷胱甘肽还原酶活性与对照相比显著升高。本研究结果得出4个品种大豆SPAD值和叶片脯氨酸含量平均值大小均为杂交豆5号>吉育88>吉育72>杂交豆2号;叶片可溶性糖含量和谷胱甘肽还原酶活性均值大小依次为吉育88>杂交豆5号>吉育72>杂交豆2号;叶片丙二醛含量大小依次为杂交豆2号>吉育72>吉育88>杂交豆5号。综上所述,根据不同浓度PEG模拟干旱胁迫下4个品种大豆的综合生理反应及表型特征,耐旱性品种表现为叶片叶绿素含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量和谷胱甘肽还原酶活性均高于对干旱胁迫反应敏感品种,丙二醛含量呈现相反趋势。可知吉育88和杂交豆5号在分枝期表现出更强的耐旱能力。

参考文献

- [1] Ma T T, Christie P, Luo Y M, et al. Physiological and antioxidant responses of germinating mung bean seedlings to phthalate esters in soil[J]. *Pedosphere*, 2014, 24 (1): 107-115
- [2] 李松森, 袁伟良. 促进农业发展方式转变的财政政策思考[J]. *东北财经大学学报*, 2011 (1): 49-54
- [3] 梁建秋, 张明荣, 吴海英. 大豆抗旱性研究进展[J]. *大豆科学*, 2010, 29 (2): 341-346
- [4] 王兴荣, 张彦军, 李玥, 等. 干旱胁迫对大豆生长的影响及抗旱性评价方法与指标筛选[J]. *植物遗传资源学报*, 2018, 19 (1): 49-56
- [5] 董兴月, 林浩, 刘丽君, 等. 干旱胁迫对大豆生理指标的影响[J]. *大豆科学*, 2011, 30 (1): 83-88
- [6] 杨小环, 王玉国, 杨文秀, 等. 种子引发对水分胁迫下大豆幼苗生理特性的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2009, 17 (6): 1191-1195
- [7] 王敏, 张从宇, 马同富, 等. 大豆品种苗期抗旱性研究[J]. *中国油料作物学报*, 2004, 26 (3): 30-33
- [8] 纪展波, 蒲伟凤, 李桂兰, 等. 野生大豆、半野生大豆和栽培大豆对苗期干旱胁迫的生理反应[J]. *大豆科学*, 2012, 31 (4): 598-604
- [9] 康俊梅, 杨青川, 樊奋成. 干旱对苜蓿叶片可溶性蛋白的影响[J]. *草地学报*, 2005, 13 (3): 199-202
- [10] 周彦春. 加快农作物品种创新步伐助力黑龙江省现代化大农业[J]. *种子世界*, 2011 (11): 4-6
- [11] Barbosa H S, Arruda S C, Azevedo R A, et al. New insights on proteomics of transgenic soybean seeds: evaluation of differential expressions of enzymes and proteins[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 402 (1): 299-314
- [12] Arumingtyas E, Savitri E, Purwoningrahayu R, et al. Protein profiles and dehydrin accumulation in some soybean varieties (*Glycine max* L. Merr.) in drought stress conditions[J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2014, 5: 1889-1906
- [13] 董守坤, 赵坤, 刘丽君, 等. 干旱胁迫对春大豆叶绿素含量和根系活力的影响[J]. *大豆科学*, 2011, 30 (6): 949-953
- [14] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 184-195
- [15] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 101-103
- [16] Walter Larcher. 植物生态生理学[M]. 翟志席, 郭玉海, 马永泽, 译. 北京: 中国农业大学出版社, 1997: 245-328
- [17] 李松丽, 龙华, 石春梅, 等. 水分胁迫下辣椒相关生理指标的变化研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38 (29): 16142-16143
- [18] 于闯, 南丽丽, 魏永鹏. 不同红苜蓿材料苗期抗旱性综合评价[J]. *草原与草坪*, 2017, 37 (4): 74-80
- [19] 蒲伟凤, 李桂兰, 张敏, 等. 干旱胁迫对野生和栽培大豆根系特征及生理指标的影响[J]. *大豆科学*, 2010, 29 (4): 615-622
- [20] 卢琼琼, 宋新山, 严登华. 干旱胁迫对大豆苗期光合生理特性的影响[J]. *中国农学通报*, 2012, 28 (9): 42-47
- [21] 王晓君. 干旱胁迫对大豆吸收营养物质、产量及相关酶的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015
- [22] 芮海英, 王丽娜, 金铃, 等. 苗期干旱胁迫对不同大豆品种叶片保护酶活性及丙二醛含量的影响[J]. *大豆科学*, 2013, 32 (5): 647-649, 654
- [23] 丁顺华, 陈珊, 卢从明. 植物叶绿体谷胱甘肽还原酶的功能研究进展[J]. *植物生理学报*, 2016, 52 (11): 1703-1709
- [24] 张腾国, 聂亭亭, 孙万仓, 等. 逆境胁迫对油菜谷胱甘肽还原酶基因表达及其酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2018, 29 (1): 213-222

(收稿日期: 2018-06-14)

欢迎订阅

《中国水稻科学》为双月刊, 大16开, 104页, 定价20.00元(全年120.00元), 邮发代号32-94, 国外代号Q6533。《Rice Science》为中国科技核心期刊, 为双月刊, 大16开, 60页, 定价15.00元(全年90.00元), 境外15美元(全年90美元), 自办发行, 请读者直接向编辑部订阅。地址: (311401) 杭州市富阳区水稻所路28号中国水稻研究所内。电话: 0571-63370278(63371017), E-mail: cjrs@263.net; li@ricescience.org; rs@ricescience.org。