

硒对连作障碍下大豆膜脂 过氧化损伤的影响^{*}

罗盛国 李彦 刘元英 姜伯文 赵久明

(东北农业大学农学院 哈尔滨 150030)

摘 要

本试验研究了连作胁迫条件下,硒在减轻连作胁迫对大豆膜脂过氧化损伤中的作用。结果表明,在重茬盆栽和迎茬小区试验中,硒的施用显著提高了大豆叶片中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,方差分析结果分别为 $F=13.00^{**}$ 和 $F=5.12^{**}$ 。由于 GSH-Px 活性的提高,使大豆叶片中膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的含量明显降低,二者呈极显著负相关,相关系数分别为 $r=-0.967^{**}$ 和 $r=-0.691^{**}$;在重茬盆栽试验中,硒处理明显地提高大豆对红蜘蛛的抗性,使产量较对照增加 93.2%~112.7%, $F=26.55^{**}$ 。在迎茬小区试验中,硒处理使大豆产量提高 12.96%~14.53%,但方差分析未达到显著水平。

关键词 硒;大豆连作;膜脂过氧化

前 言

受市场经济的影响,大豆连作的面积不断增加,大豆连作后病虫害加剧,单产降低,品质变劣^[1]。为克服大豆连作所产生的问题,我们分别进行了大豆重茬盆栽试验和迎茬小区试验,探讨硒在抗大豆连作胁迫方面的作用。

GSH-Px 是生物体内清除自由基的酶性保护系统的主要成员之一,它具有很强的抗氧化性能,可广泛地清除有机氢过氧化物^[2],降低体内过多的自由基对膜的伤害。硒是 GSH-Px 的组成成分,我们已往的试验已证明,硒能够提高水培和土培条件下大豆叶片中 GSH-Px 的活性^[3]。

生物膜理论和自由基伤害学说证明,逆境胁迫下植株体内的自由基累积,导致膜脂过氧化作用^[4]。连作对大豆是较为严重的逆境胁迫,本试验探讨了连作胁迫下硒对大豆叶片中 GSH-Px 活性的影响;GSH-Px 活性与脂质过氧化物的清除和产量的关系。

^{*} 黑龙江省自然科学基金资助项目

收稿日期 1998-12-27

Received on Dec. 27, 1998

材料与方法

1 供试材料

供试品种: 东农 42

供试土壤: 重茬胁迫盆栽所用的土壤为石灰性黑钙土, 采自齐齐哈尔, 为重茬六年与重茬十二年的混合土壤, 迎茬胁迫小区土壤为黑土, 小区设在校内农化试验地, 前茬为小麦, 供试土壤的基础肥力如表 1

供试肥料: 尿素、二铵、硫酸钾和亚硒酸钠 (化学试剂)。

表 1 土壤基础肥力

Table 1 Soil fertility

| 土壤 Soil | 有机质 O. M | 全氮 Total N | 全磷 Total P | 缓效钾 Nonexchang K | 碱解氮 N | 速效磷 Available P | 速效钾 K | 水溶性硒 Soluble Se | H |
|--------------------|-------------|---------------|---------------|---------------------|----------|---------------------|----------|--------------------|-----|
| | (%) | | | | | mg kg ⁻¹ | | | |
| 盆栽土壤 Pot soil | 2.40 | 0.140 | 0.057 | 785 | 95.6 | 10.8 | 126.6 | 0.011 | 8.0 |
| 小区土壤 Field soil | 3.04 | 0.160 | 0.052 | 1053 | 94.9 | 27.7 | 183.0 | 0.013 | 7.2 |

2 试验方法

重茬盆栽和迎茬小区试验都设置 4 个处理, CK、Se₀、Se₃、Se₆, 以亚硒酸钠不同用量为处理, 小区施肥量为 N27kg ha⁻¹, P₂O₅68kg ha⁻¹, K₂O55kg ha⁻¹, 盆栽施肥量为小区施肥量的 3 倍, 试验所用肥料 (包括亚硒酸钠) 均作底肥一次施入。

重茬盆栽试验设 10 次重复, 选用 25cm×30cm 的白瓷盆, 每盆装土 12kg, 保苗 3 株。迎茬小区试验设 3 次重复, 每小区 5 垄, 垄长 5.0m, 垄宽 70cm。小区面积 17.5m²。

3 取样时期及测试方法

重茬盆栽试验在苗期 (6 月 4 日) 和花期 (7 月 5 日) 各取一次样, 每次取样均测 GSH-Px 活性, MDA 的含量只测定了花期的样品。迎茬小区试验只在花期取样一次, 分别测定 GSH-Px 活性和 MDA 含量, 收获后测产。

GSH-Px 活性和 MDA 含量的测定: 取新鲜的上数第三片展平三出复叶的中间叶片, 用 EDTA-磷酸盐缓冲液匀浆后, 分别采用 DTNB 法^[5]和 TBA 法^[6]进行测定。

土壤基础肥力的测定按常规法^[7]进行, 土壤水溶性硒的测定采用荧光光度法^[8]。

结果与分析

1 连作胁迫下硒对大豆叶片中 GSH-Px 活性的影响

1.1 重茬盆栽试验中硒对大豆叶片中 GSH-Px 活性的影响

重茬盆栽条件下, 土壤施硒使 GSH-Px 活性显著增强, 测定结果见表 2, 方差分析达到极显著水平 (F= 13.00*), 多重比较的结果表明: Se₆ 与 CK 比较差异不显著, Se₃ 与

CK比较达到 3% 显著水平, Se₃ 与 CK比较达到 1% 显著水平, Se₂ 和 Se₃ 处理 GSH- Px 活性与 CK相比分别提高 49. 34% 和 89. 64%。结果说明,在重茬盆栽试验条件下,施用适量的硒,可以显著地提高大豆体内 GSH- Px 活性

表 2 重茬盆栽试验硒对大豆叶片中 GSH- Px 活性的影响

| Table 2 Effect of Se on activity of GSH- Px in leaves of continuous cropped soybean in pot experiment | | | | | | | | | |
|---|--|---------|----------|---------|---------|---------|--------------|---|---|
| 处理 Treatment | GSH- Px活性 ($\mu\text{mol}^{\circ}\text{g鲜重}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) | | | | | | 差异显著性* | | |
| | GSH- Px Activity($\mu\text{mol}^{\circ}\text{gFW}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) | | | | | | Significance | | |
| | 苗期 | | Seedling | | 花期 | | Mean | | |
| | I | II | III | IV | I | II | 5% 1% | | |
| CK | 0. 9658 | 0. 8992 | 0. 7392 | 0. 9792 | 0. 4850 | 0. 7925 | 0. 8108 | a | A |
| Se ₁ | 1. 1125 | 1. 3525 | 1. 1658 | 1. 3062 | 0. 8284 | 0. 9908 | 1. 1260 | a | A |
| Se ₂ | 1. 2858 | 1. 1658 | 1. 0992 | 1. 3525 | 1. 3162 | 1. 0392 | 1. 2098 | b | B |
| Se ₃ | 1. 1661 | 1. 5660 | 1. 8726 | 1. 4327 | 1. 3704 | 1. 8100 | 1. 5363 | b | B |

* 采用邓肯法进行多重比较,以下相同。

1. 2 迎茬小区试验中硒对大豆叶片中 GSH- Px 活性的影响

表 3 迎茬小区试验硒对大豆叶片中 GSH- Px 活性的影响

| Table 3 Effect of Se on activity of GSH- Px in leaves of alternate cropping soybeans in field experiment | | | | | |
|--|--|---------|---------|------------|------------------------------|
| 处理 Treatment | GSH- Px活性 ($\mu\text{mol}^{\circ}\text{g鲜重}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) | | | 平均 Mean | 差异显著性 Sig nificance 5% |
| | GSH- Px Activity($\mu\text{mol}^{\circ}\text{gFW}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) | | | | |
| | I | II | III | | |
| | | | | | |
| CK | 0. 8492 | 0. 9033 | 0. 8116 | 0. 9214 | a |
| Se ₁ | 0. 8545 | 0. 9875 | 0. 9450 | 0. 9290 | a |
| Se ₂ | 0. 8730 | 1. 1380 | 0. 9454 | 0. 9855 | a |
| Se ₃ | 1. 0116 | 1. 1800 | 1. 3788 | 1. 1901 | b |

迎茬小区花期取样测定结果见表 3 方差分析达到显著水平 (F= 6. 75^{*}),但多重比较的结果表明,只有 Se₃处理 GSH- Px 活性显著高于 CK,而 Se₁和 Se₂处理与 CK间差异不显著。说明在迎茬小区试验条件下,土壤中施入适量的硒可以提高大豆体内的 GSH- Px 活性。

2 连作胁迫下硒对大豆叶片中 MDA含量的影响

依据自由基理论,植物在逆境胁迫下,细胞内自由基代谢平衡遭到破坏而有利于自由基的产生,累积的自由基会加剧膜脂过氧化作用。通常以膜脂过氧化的终端产物 MDA 的多少作为植物细胞膜脂过氧化程度的一个标志。

表 4 重茬盆栽试验花期大豆叶片中 MDA含量

| Table 4 The MDA content in soybean leaves at blooming stage in continuous cropping pot experiment | | | | | | | |
|---|--|-------|------------|-----------------|--|-------|------------|
| 处理 Treatment | MDA含量($\mu\text{mol}^{\circ}\text{g}\text{鲜重}^{-1}$) | | 平均 Mean | 处理 Treatment | MDA含量($\mu\text{mol}^{\circ}\text{g}\text{鲜重}^{-1}$) | | 平均 Mean |
| | MDA content($\mu\text{mol}^{\circ}\text{g}\text{FW}^{-1}$) | | | | MDA content($\mu\text{mol}^{\circ}\text{g}\text{FW}^{-1}$) | | |
| | I | II | | | I | II | |
| CK | 19.96 | 19.35 | 19.66 | Se ₂ | 17.00 | 17.52 | 17.26 |
| Se ₁ | 18.84 | 18.15 | 18.50 | Se ₃ | 15.40 | 15.22 | 15.48 |

2 1 重茬盆栽条件下硒对大豆叶片中 MDA含量的影响

从表 4的结果可以看出,土壤施硒使大豆叶片中 MDA含量下降,在试验所用硒浓度范围内,随着硒用量的增加,MDA含量下降幅度增大,Se₁ Se₂ Se₃三个处理分别比 CK下降 6. 20% ,9. 46%和 18. 66%。这些结果表明,在重茬盆栽条件下,适量的硒能使大豆植株内 MDA含量下降。

2 2 迎茬小区条件下硒对大豆叶片中 NDA含量的影响

表 5 迎茬小区试验花期大豆叶片中的 MDA 含量

Table 5 The MDA content in soybean leaves at blooming stage in alternate cropping in field experiment

| 处理 Treatment | M D A含量 (μ m ol° g 鲜重 ^{- 1}) M D A content(μ m ol° g FW ^{- 1}) | | | 平均 M ean | 差异显著性 S i g n i f i c a n c e | |
|-----------------|---|--------|--------|-------------|----------------------------------|----|
| | I | II | III | | 5% | 1% |
| | | | | | | |
| CK | 16. 26 | 16. 00 | 16. 32 | 16. 19 | a | A |
| Se ₁ | 15. 00 | 15. 42 | 14. 30 | 14. 91 | b | AB |
| Se ₂ | 13. 36 | 14. 32 | 14. 71 | 14. 13 | b | B |
| Se ₃ | 12. 54 | 13. 42 | 12. 39 | 12. 78 | c | B |

硒处理对迎茬小区大豆叶片中 MDA含量的影响见表 5,不同处理间差异达到极显著水平 (F= 21. 09^{*}),说明施用一定量的硒,可显著降低迎茬小区大豆体内 MDA的含量,Se₁ Se₂ Se₃三个处理较 CK分别下降 7. 91%、12. 72%、21. 06%。

MDA含量被认为是膜脂过氧化程度的标志,施硒处理使大豆体内 MDA含量下降,说明连作胁迫下大豆体内累积的自由基得到了部分清除,由自由基引发的膜脂过氧化作用得到了一定程度的抑制,缓解了膜脂过氧化对细胞的损伤作用。

3 连作胁迫下大豆叶片中 GSH- Px活性与 MDA含量的关系

用重茬盆栽试验的 8组数据和迎茬小区试验的 12组数据,分别对 GSH- Px活性和MDA含量间进行相关分析,结果表明,无论是重茬还是迎茬试验,在试验所采用的硒浓度范围内,叶片中 GSH- Px活性与 MDA含量间都存在着良好的线性负相关,线性方程如下:

重茬盆栽 $y= 21. 991- 3. 960x$ $r= - 0. 967^{*}$

迎茬小区 $y= 20. 133- 5. 688x$ $r= - 0. 691^{*}$

表 6 重茬盆栽试验大豆产量

Table 6 The soybean yield in continuous cropped pot experiment

| 处理 | 产量(克/盆) Yield (g° pot ⁻¹) | | | | 平均 | 差异显著性 | |
|-----------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
| Treatment | I | II | III | IV | Mean | 5% | 1% |
| CK | 17. 0 | 8. 5 | 13. 8 | 8. 0 | 11. 8 | a | A |
| Se ₁ | 26. 0 | 20. 0 | 22. 0 | 23. 0 | 22. 8 | b | B |
| Se ₂ | 24. 8 | 25. 7 | 26. 5 | 23. 5 | 23. 6 | b | B |
| Se ₃ | 23. 4 | 24. 6 | 25. 5 | 21. 2 | 25. 1 | b | B |

硒是 GSH- Px的重要组成部分,硒处理使连作胁迫的大豆体内 GSH- Px活性显著

增强,由此导致膜脂过氧化终端产物 MDA 含量明显降低,叶片中 GSH- Px 活性与 MDA 含量间呈良好的线性负相关。证明硒在大豆体内的抗氧化作用是通过 GSH- Px 来实现的。

4 连作胁迫下硒对大豆产量的影响

4.1 重茬盆栽试验中硒对大豆产量的影响

重茬盆栽试验大豆产量见表 6,方差分析达到极显著水平 ($F=26.55^{**}$), Se_1 Se_2 Se_3 三个处理的产量比对照分别增加 93.2%, 100% 和 112.7%, 硒处理与对照产量相差如此悬殊的主要原因是对照在花期遭受红蜘蛛危害较重,这与我们已有的试验结果^[3]相一致。

表 7 迎茬小区试验大豆产量

Table 7 Soybean yield in alternate cropping in field experiment

| 处理 Treatment | 产量 (kg/亩) Yield (kgmu ⁻¹) | | | 平均 Mean | 增产 Increase(%) |
|-----------------|---------------------------------------|-------|-------|------------|-------------------|
| | I | II | III | | |
| CK | 136.5 | 98.0 | 126.8 | 120.4 | - |
| Se ₁ | 117.1 | 149.2 | 147.6 | 137.9 | 14.53 |
| Se ₂ | 133.5 | 128.6 | 146.0 | 136.0 | 12.96 |
| Se ₃ | 130.5 | 139.7 | 139.3 | 136.5 | 13.40 |

迎茬小区试验的产量如表 7,对表中数据进行方差分析,差异不显著,但 Se_1 处理对大豆表现出一定的增产作用。

结 论

盆栽和田间小区的试验结果都表明,在连作胁迫条件下,土壤施硒能显著提高大豆叶片中 GSH- Px 活性,随着 GSH- Px 活性的增强,膜脂氧化的终端产物 MDA 明显降低,叶片中 GSH- Px 活性与 MDA 含量间呈极显著的负相关,表明硒具有缓解连作胁迫下大豆体内自由基引发的膜脂过氧化作用,增强大豆的抗逆性,并说明硒的生物抗氧化作用是通过 GSH- Px 实现的。

由于 GSH- Px 具有很强的生物抗氧化作用,能够及时清除在逆境条件下大豆体内过多的自由基,使膜脂不致发生过氧化作用而得到保护,所以施硒处理在一定程度提高了大豆对连作胁迫的抗性,对提高连作大豆产量有积极作用,表明施硒有可能成为一条克服大豆连作障碍的有效途径。

参 考 文 献

[1] 王震宇, 1991, 重迎茬大豆生长发育障碍机制初报, 大豆科学, (1)
[2] 倪静安, 1992, 微量元素硒, 自由基与健康的关系, 无锡轻工业学院学报, (3): 274
[3] 刘元英, 1998, 硒对大豆体内谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响, 大豆科学, (2): 155
[4] 陈少裕, 1991, 膜脂过氧化对植物细胞的伤害, 植物生理学报, (2): 84