

## 甘露醇、过氧化氢和氯化钠处理对黑豆苗期抗旱性的影响

杨卫民, 刘宝琦, 张世珍

(吕梁高等专科学校, 山西 吕梁 033000)

**摘要:**将黑豆幼苗用甘露醇处理后, 观察其形态特性与生长状况; 用过氧化氢、氯化钠分别浸泡黑豆种子, 测定幼苗叶片脯氨酸含量, 研究不同处理对黑豆抗旱性的影响。结果表明: 甘露醇处理造成黑豆幼苗水分胁迫, 致使植株较低, 株型紧凑, 叶直立, 叶面积小, 叶片薄, 叶色淡绿, 根毛较长, 根系发达并导致叶片水势降低, 幼苗的抗旱能力增强; 过氧化氢处理使幼苗叶片脯氨酸含量明显下降, 幼苗的抗旱性减弱; 而氯化钠处理造成幼苗叶片脯氨酸含量显著提高, 抗旱性增强。

**关键词:**黑豆幼苗; 水分胁迫; 脯氨酸; 抗旱性

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2010)02-0350-04

## Effect of Mannitol, Hydrogen Peroxide and Chloride Treatment on Drought Resistance of Black Soybean Seedling

YANG Wei-min, LIU Bao-qi, ZHANG Shi-zhen

(Luliang Higher College, Luliang 033000, Shanxi, China)

**Abstract:** The black soybean seedlings were sprayed with mannitol, subsequently, their morphological characteristics, growth status were observed; and the soybean seeds were soaked with different concentration of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and sodium chloride (NaCl) respectively, then the seedling proline content was determined, to study the effect of different treatments on drought resistance of black soybeans. Results indicated that the black soybean seedlings treated by mannitol resulted in lower plant, compacted plant-type, small and thin leaves, and longer root hair, hence, the drought resistance of the seedlings was enhanced. The proline content showed increase-and-then-decrease trend with the increasing of  $H_2O_2$  and NaCl concentration. Compared with control, NaCl seed soaking treatment significantly increased proline content, while  $H_2O_2$  treatment decreased proline content. Hence, NaCl seed soaking is helpful for increase drought resistance in soybean.

**Key words:** Black soybean seedlings; Water stress; Proline; Drought resistance

植物抗旱性是指陆生植物对干旱环境的适应或抗御能力<sup>[1]</sup>。由于陆生植物经常受到干旱威胁, 在长期适应进化中形成各种抗旱机能。在形态方面, 一般陆生植物叶表面有角质层, 栅栏细胞排列紧密, 有的叶片有绒毛, 有的干旱时叶片卷成筒状; 在生理方面可降低细胞水势, 自行开合气孔控制蒸腾; 在生化方面, 主动提高体内糖分和氨基酸含量以增强吸水能力, 主动抑制分解酶活性以保持在干旱下的代谢平衡等<sup>[2]</sup>。一些反映干旱胁迫下地上部水分状况的指标如卷叶程度、死叶程度、叶片相对含水量、叶片水势和延迟开花时间等经常用作田间抗旱筛选指标<sup>[3-6]</sup>。在干旱条件下, 增强细胞渗透调节能力的关键是细胞内渗透调节物质如可溶性糖、脯氨酸(Proline)、脱落酸等的主动积累<sup>[7]</sup>, 这样可以使植物失水减少, 从而增加植物的耐干旱胁迫能力和延缓缺水胁迫的加剧<sup>[8]</sup>。

目前, 国内外有关农作物的抗旱性研究的报道很多, 但有关黑豆抗旱性的研究还鲜有报道。黑豆作为我国传统的小杂粮, 被广泛栽培, 主要集中于黄河流域地区, 但是由于受到自然条件的制约, 特别是干旱的影响, 存在着广种薄收, 品系严重退化的现象。该文通过用甘露醇( $C_6H_{14}O_6$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、氯化钠(NaCl)处理黑豆种子或幼苗, 测定其形态特征、生长态势与生理生化指标, 并分析其对黑豆抗旱性造成的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂、材料与仪器

1.1.1 主要试剂 甘露醇、 $H_2O_2$ 、NaCl、Proline、酸性茚三酮、磺基水杨酸、甲苯(Toluene)(以上试剂均为分析纯)。

1.1.2 材料 黑豆(山西省岚县)。

收稿日期: 2009-08-06

基金项目: 山西吕梁高等专科学校基础重点应用资助项目(2008.06)。

第一作者简介: 杨卫民(1960-), 男, 教授, 研究方向为植物化学及植物次生物质代谢。E-mail: yangweimin0318@sina.com。

1.1.3 主要仪器 FA2104N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)、HH-2 数显恒温水浴锅(杰瑞尔电器有限公司)、722N 型可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 形态指标的观察 选取颗粒饱满,色泽均一的黑豆种子各 50 粒,分 8 组,用蒸馏水浸泡,置于经高压灭菌、垫有 2 层湿润纱布的培养皿中,并加入适量蒸馏水,在植物光照培养箱下进行萌发试验(温度 25℃,光强 5000 lux),当种子开始萌发时,其中 4 组喷洒 10、15、20、25 g · L<sup>-1</sup>浓度的甘露醇溶液,其它 4 组喷洒蒸馏水作对照。14 d 后,待长出 10 片叶子时,对处理组和对照组幼苗进行形态观察。

1.2.2 生长指标的测定 方法同 1.2.1,分别对处理组和对照组的黑豆幼苗的株高、最大根长、最大根长/株高进行测定。

1.2.3 生理指标的测定 采用小液流法测定水势<sup>[9]</sup>。

1.2.4 脯氨酸含量的测定 取干净的培养皿,分组编号,在培养皿中放入饱满,大小均一的黑豆种子,每皿 50 粒( 5 次重复)。分别用 0.01%、0.1%、1%、3% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 NaCl 溶液浸泡 12 h,以蒸馏水为对照。将浸泡后的种子洗净,置于经高压灭菌、垫有 2 层湿润纱布的培养皿中,并加入适量蒸馏水,在植物光照培养箱下进行萌发试验(温度 25℃,光强 5 000 lux)。大约培养 14 d 后待黑豆长出 2 ~ 4 片叶片时参照刘萍等的方法<sup>[10]</sup>测定脯氨酸含量。

2 结果与分析

2.1 幼苗形态特征

经甘露醇处理的黑豆幼苗株高较低,株型紧凑;叶直立,叶面积小,叶片薄,叶色淡绿,有些叶片呈卷曲状(图 1);根毛较长,根系发达,向四周扩散的范围较大。



图 1 处理组和对照组黑豆幼苗的形态特征

Fig.1 Morphological features of black soybean seedlings under mannitol treatment(B) and control(A)

2.2 幼苗生长态势

从表 1 可以看出,平均株高和最大根长均表现为处理组小于对照组;而最大根长/株高则表现为

处理组显著大于对照组。表明在干旱情况下,黑豆幼苗植株逐渐变矮、根系变长。矮小的植株、发达的根系能减少植株水分蒸腾、增加根系吸水,进而

表 1 黑豆幼苗株高、最大根长、最大根长/株高数据统计

Table 1 Black soybean plant height, maximum root length and maximum root length /plant height of soybean seeding under mannitol treatment

测定指标 Determination item	处理 Treatment					平均值 Average	对照 Control					平均值 Average
株高 Height/cm	15.8	11.6	8.7	7.9	7.4	10.67	16.9	21.8	11.4	15.0	20.6	17.79
	14.2	14.1	11.9	6.7	8.4		20.3	16.8	19.8	13.5	21.8	
最大根长 Maximum root length/cm	11.4	10.3	11.1	11.0	15.4	12.65	13.1	10.2	10.1	11.4	6.5	10.66
	10.4	11.2	13.8	17.8	14.1		12.2	11.6	13.2	9.5	8.8	
根长/株高 Root length/ Height	0.83	0.88	1.16	1.44	0.88	1.05	0.67	0.47	0.97	0.73	0.75	0.74
	0.86	0.82	1.11	1.42	1.05		0.51	0.67	0.70	1.32	0.65	

提高黑豆的抗旱能力。

2.3 叶片组织细胞水势

在干旱胁迫下,黑豆幼苗的叶片组织水势表现为处理组显著低于对照组(表2),表明水分胁迫导致叶片组织水势降低,增加了细胞内外的水势差,进而增强了植株的吸水能力,从而维持植株的正常生长<sup>[11]</sup>。

表2 植物组织水势

Table 2 Water potential of plant tissue/MPa		
组号 Group ID	对照组 Treatment	处理组 Control
I	-0.804	-1.447
II	-0.965	-1.768
III	-0.772	-1.286
平均值 Average	-0.847	-1.500

2.4 叶片脯氨酸含量

从表3可以看出,随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和NaCl浓度的增加,幼苗叶片脯氨酸含量均呈先升后降的变化趋势。脯氨酸作为最有效的渗透调节物质,干旱时植株体内积累量增加,与对照相比,NaCl处理促进了幼叶脯氨酸积累,而H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理使幼叶中的脯氨酸含量明显减少。

表3 不同处理黑豆幼苗叶片脯氨酸含量的变化

Table 3 Effect of different concentrations reagents seed soaking on proline content in soybean leaves

处理 Treatment	浓度 Density/%	吸光度(OD) Absorbance	含量 Content /μg · g <sup>-1</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3.0	1.020	47.639
	1.0	1.144	53.380
	0.1	1.029	48.056
	0.01	0.749	35.093
NaCl	3.0	1.497	69.722
	1.0	1.702	79.213
	0.1	0.993	46.389
	0.01	0.806	37.731
H <sub>2</sub> O		1.114	51.991

3 讨论

干旱会使黑豆植株体内的水分平衡失调,从而使原生质脱水、衰老、破损,光合能力降低,有机物运输及积累减少,同时破坏了有机物合成与分解的正常比例,对产量造成严重的影响<sup>[12-13]</sup>。在干旱条件下,植株可以通过增加根毛长度和根毛密度等根系性状来增强吸水能力<sup>[14-18]</sup>,进而增强植株的抗旱性能。结果表明,黑豆根系特性和活动状况与抗旱性有密切的联系,干旱条件下,黑豆幼苗根系发达,主根长度与侧根长度显著大于在水分充足下

生长的植株。甘露醇处理致使黑豆幼苗根毛显著伸长,根系发达,向四周扩散的范围较大,有利于黑豆幼苗的吸水,从而增强了黑豆幼苗的抗旱能力。

干旱不仅会改变植株的形态性状,而且会导致叶片水势、脯氨酸含量等生理生化特性发生相应的变化<sup>[19]</sup>,脯氨酸作为最有效的渗透调节物质,其含量的高低影响着植株的抗逆性能,在多种逆境下,植物体内都积累脯氨酸,尤其是干旱时积累最多。结果表明,NaCl处理使幼苗叶片脯氨酸含量显著增加,但是如果NaCl浓度过低幼苗体内脯氨酸含量不会过度积累,因此,不同浓度的NaCl处理黑豆种子对其幼苗的抗旱能力的影响效果不尽相同;而H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理致使脯氨酸含量明显降低,与对照黑豆幼苗叶片脯氨酸含量79.213 μg · g<sup>-1</sup><sup>[20]</sup>和黑豆种子脯氨酸含量261.2 μg · g<sup>-1</sup>存在显著差异,表明在黑豆种子萌发过程中有大量的脯氨酸被转化或被消耗,从而严重降低了黑豆幼苗的抗旱性能。

4 结论

甘露醇处理导致黑豆幼苗处于水分胁迫状态,其形态特征与生长状况发生了一系列适应性变化:株型紧凑、叶直立、根系发达、叶面积减小、叶片水势降低等,这样可以减少水分的过度散失,增强植株的抗旱能力。

NaCl处理使黑豆幼苗处于盐胁迫状态,致使叶片脯氨酸含量显著增加,增强了黑豆幼苗的抗旱能力,而H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理使叶片脯氨酸含量明显降低,渗透调节能力减弱,降低了黑豆幼苗的抗旱性能。

参考文献

[1] 陈立松,刘星辉.作物抗旱鉴定指标的种类及其综合评价[J].福建农业大学学报,1997,26(1):48-55. (Chen L S, Liu X H. Kinds of index for crop drought resistance identification and comprehensive evaluation[J]. Journal of Fujian Agricultural University, 1997, 26 (1): 48-55.)

[2] 倪郁,李唯.作物抗旱机制及其指标的研究进展与现状[J].甘肃农业大学学报,2001,36(1):14-22. (Ni Y, Li V. The status and recent development in crop drought-resistant mechanism index [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2001, 36 (1): 14-22.)

[3] Melis A. Photosystem II Damage and repair cycle in chloroplasts: What modulathe rate of photodamage *in vivo* [J]. Trends in Plant Science, 1999;130-135.

[4] Messina F J, Durham S L. Trade off between plant growth and defense: A comparison of sagebrush populations [J]. Oecologia, 2002, 131(1):43-51.

[5] Liu F, Stützel H. Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in re-

- sponse to drought stress [J]. *Scientia Horticulturae*, 2004, 102 (1):15-27.
- [6] Marcelo S M, Alex-Alan F A, Fabio P G, et al. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa Americana* seedlings to soil flooding [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50:221-231.
- [7] 江龙. 作物抗旱性的研究方法 [J]. *贵州农业科学*, 1999, 27 (5):70-72. (Jiang L. Study on the method of the drought-resistant crops [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 1999, 27 (5):70-72.)
- [8] 胡标林, 李名迪, 万勇, 等. 我国水稻抗旱性鉴定方法与指标研究进展 [J]. *江西农业学报*, 2005, 17(2):56-60. (Hu B L, Li M D, Wan Y, et al. Chinese rice drought resistance identification methods and indicators of progress in the [J]. *Jiangxi Journal of Agricultural Sciences*, 2005, 17 (2): 56-60.)
- [9] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导 (第三版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007:6-7. (Zhang Z L, Zhai W J. *Plant physiology experiments guide (Third edition)* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2007:6-7.)
- [10] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2007:188-191. (Liu P, Li M J. *Experimental technology of plant physiology* [M]. Beijing: Science Press, 2007:188-191.)
- [11] 杨卫民. 植物细胞水势的研讨 [J]. 吕梁高等专科学校学报, 2001(1):50-52. (Yang W M. The discussion of plant cells, water potential [J]. *Luliang Higher College*, 2001(1): 50-52.)
- [12] Turner N C. Drought resistance and adaplation to water delcils in crop plant [M]. New York: John Wiley and Sons, 1979:343-372.
- [13] 王锁民. 农作物抗旱性及耐热性的简易诊断法—根冠淀粉水解法 [J]. 国外农学-麦类作物, 1990(2):40-41. (Wang S M. Drought resistant crops to compile and heat resistance of simple diagnosis method - the root crown starch hydrolysis [J]. *Foreign Agronomy-Journal of Triticeae Grops*, 1990(2): 40-41.)
- [14] 孙祖东, 陈怀珠, 杨守臻, 等. 大豆抗旱性研究进展 [J]. 大豆科学, 2001, 20(3):221-226. (Sun ZD, Chen H Z, Yang S Z, et al. Advances in soybean drought resistance [J]. *Soybean Science*, 2001, 20 (3): 221-226.)
- [15] 孙彩霞, 沈秀瑛. 作物抗旱性鉴定指标及数量分析方法的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2002, 18(1):49-51. (Sun C X, Shen X Y. Crop drought identify indicators and quantitative analysis methods [J]. *China Agronomy Bulletin*, 2002, 18 (1): 49-51.)
- [16] 路贵和, 安海润. 作物抗旱性鉴定方法与指标研究进展 [J]. 山西农业科学, 1999, 27(4):39-43. (Lu G H, An H R. Progress on crop drought resistance identification methods and indicators [J]. *Shanxi Agricultural Sciences*, 1999, 27 (4): 39-43.)
- [17] 龚明. 作物抗旱性鉴定方法与指标及其综合评价 [J]. 云南农业大学学报, 1989, 4(1):73-81. (Gong M. Crop drought resistance identification methods and indicators and comprehensive evaluation [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 1989, 4 (1): 73-81.)
- [18] 穆平, 李自超, 李春平, 等. 水、旱稻根系性状与抗旱性相关分析及其 QTL 定位 [J]. 科学通报, 2003, 48(20):2162-2169. (Mu P, Li Z C, Li C P, et al. QTL mapping of root tracts of water and upland rice and their correlation with drought resistance [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48 (20): 2162-2169.)
- [19] 杨子光, 张灿军, 冀天会, 等. 小麦抗旱性鉴定方法及评价指标研究 V. 苗期抗旱指标的比较研究 [J]. 中国农学通报, 2008, 24(1):156-159. (Yang Z G, Zhang C J, Yi T H, et al. Study on resistance drought identify method and evaluation index of wheat V. Drought resistant index of wheat seedling [J]. *Agronomic Science*, 2008, 24(1):156-159.)
- [20] 杨卫民. 黑豆中几种生物活性物质的提取及含量对比分析 [J]. 长春工业大学学报, 2006, 27(2):78-80. (Yang W M. Extraction and comparative analysis of several bioactive substances from black soybean [J]. *Changchun University of Technology*, 2006, 27(2):78-80.)
- (上接第 349 页)
- [5] 许东河, 李东艳. 大豆百粒重与抗旱性及产量的关系 [J]. 中国油料, 1991(3):64-66. (Xu D H, Li D Y. The relation between 100-grain weight and drought-resistance and yield of soybean [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Scieives*, 1991(3):64-66.)
- [6] 张桂茹, 李思芳, 张洪文. 大豆种粒大小对生长发育及产量的影响 [J]. 黑龙江农业科学, 2000(3):30-31. (Zhang G R, Li S F, Zhang H W. The influence of soybean grain weight on growth, development and yield of soybean [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2000(3):30-31.)
- [7] 于广文, 李 砚, 赵美玲. 贮藏时间对不同类型大豆种子发芽率及出苗率影响的研究 [J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2007, 1(6):6-7. (Yu G W, Li Y, Zhao M L. Influences of storage time on the germination percentage and emergence percentage of Soybean [J]. *Journal of Agricultural Profession College of Liaoning*, 2007, 1(6):6-7.)
- [8] 吴东根. 大豆产量形成及其限制因素研究 [J]. 中国种业, 2007 (4):15-17. (Wu D G. Study on yield formation and limit factors of soybean [J]. *China Seed Industry*, 2007(4):15-17.)
- [9] 王绶. 大豆 [M]. 太原: 山西人民出版社, 1984:73-74. (Wang Shou. *Soybean* [M]. Taiyuan: Shanxi People's Press, 1984:73-74.)
- [10] 王金陵. 大豆 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1982:98. (Wang J L. *Soybean* [M]. Harbin: Science and Technology Press of Heilongjiang, 1982:98.)
- [11] Takashi Wada. Reducing seed damage by soybean bugs by growing small-seeded soybeans and delaying sowing time [J]. *Crop Protection*, 2006, 25:726-731.
- [12] 韩秉进 潘相文 金 剑, 等. 大豆植株性状相关性与产量回归分析 [J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(6):1429-1433. (Han B, Pan X, W, Jin J, et al. Correlation and regression analysis of trait and yield of soybean [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(6):1429-1433.)