

CO₂ 倍增和 UV-B 辐射增强对 2 个大豆突变体部分抗性指标的影响

吕志伟¹, 杨子军², 王 倩¹, 郭 彦¹, 张文会¹

(1. 聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059; 2. 吉林省桦甸市农业技术推广中心, 吉林 桦甸 132400)

摘要:以根瘤超着生大豆突变体 0498 和完全不结瘤的大豆突变体 0701 为材料, 在人工气候室内模拟条件下, 研究大气 CO₂ 浓度倍增、UV-B 辐射增强以及复合逆境胁迫条件对大豆部分抗性指标的影响。结果表明, 大豆突变体 0701 在上述 3 种处理下, SOD 活性分别下降 14.5%、17.4% 和 25.5%; 丙二醛含量在 CO₂ 倍增处理下降低 29.7%, 在 UV-B 增强处理下则升高 18.4%。大豆突变体 0498 在上述 3 种处理下, UV-B 吸收物质的量分别增加 44.4%、39.0% 和 71.9%; POD 酶活分别增加 27.3%、47.7% 和 65.6%; SOD 活性在 UV-B 增强处理下增加 27.3%; 丙二醛含量在 UV-B 增强处理下升高 85.3%, 在复合处理下仅升高 62.7%; UV-B 增强使其离子渗透率增加 12.7%。综合分析可见, 突变体 0498 的抗性优于 0701; CO₂ 倍增能提高大豆的抗性, UV-B 增强则引起大豆的抗逆反应, 复合处理下大豆的响应则较单一处理复杂, 无明显规律。

关键词: 二氧化碳; UV-B; 大豆; SOD; POD

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)04-0605-04

Effects of Doubled CO₂ and Enhanced UV-B Radiation on Resistant Indexes in Soybean (*Glycine max* Merr.)

LÜ Zhi-wei¹, YANG Zi-jun², WANG Qian¹, GUO Yan¹, ZHANG Wen-hui¹

(1. School of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng 252059, Shandong; 2. Huadian Agricultural Popularizing Center, Huadian 132400, Jilin, China)

Abstract: The increases of atmospheric CO₂ concentration and ultraviolet-B radiation (UV-B) have significantly affected the crop growth, development and physiological processes. In this study, the influences on some resistant indexes were analyzed under the condition of doubled CO₂ concentration, enhanced UV-B irradiation and their combination. Related experiments were carried out in the artificial climate room using super-nodulating mutant 0498 and non-nodulating soybean mutant 0701 as materials. The results showed that, for mutant 0701, the activities of SOD under the three treatments were decreased by 14.5%, 17.4% and 25.5%, respectively; the content of MDA was decreased by 29.7% under doubled CO₂ concentration but increased by 18.4% under enhanced UV-B irradiation. For mutant 0498, under the three treatments, UV-B absorbing compounds were increased by 44.4%, 39.0% and 71.9%, respectively; POD activities were increased by 27.3%, 47.7% and 65.6%, respectively; the activity of SOD under enhanced UV-B was increased by 27.3%; the content of MDA was increased by 85.3% under enhanced UV-B, while only increased by 62.7% under the treatment of combination; the electrolyte leakage was increased by 12.7% only under enhanced UV-B. In conclusion, the resistance of 0498 was higher than 0701. Doubled CO₂ could enhance the resistance of soybean while enhanced UV-B caused significant response. However, the responses under the treatment of combination were more complex.

Key words: Carbon dioxide; UV-B; Soybean; SOD; POD

因人类的活动而导致的大气中 CO₂ 浓度增高和紫外线的 B 波段 (UV-B, 280 ~ 320 nm) 辐射增强, 对陆地生态系统产生了显著影响^[1]。相关研究表明, UV-B 辐射能够降低生物量, 但 CO₂ 浓度的增加能够提高生物量和产量^[2-5]。所以, CO₂ 浓度的增加使 UV-B 的破坏作用得到了一定程度上的缓解, 这种影响一般与叶片的光合作用有关^[1]。

在前期工作中, 课题组研究发现增强的 UV-B 辐射能显著减少大豆植株地上部生物量, 而对株高

的抑制作用不显著; CO₂ 浓度倍增促使大豆株高和地上生物量显著增加, 对根系生物量的促进作用不显著, 但能够减轻 UV-B 辐射增强对地上及根系生物量的抑制作用; CO₂ 浓度倍增、UV-B 辐射增强及其复合胁迫均导致大豆植株根冠比下降, 且复合胁迫对根冠比的抑制作用更明显。CO₂ 浓度倍增降低了大豆叶片叶绿素、类胡萝卜素及花青素含量, 提高了净光合速率; UV-B 辐射增强导致叶绿素含量减少, 光合速率下降, 却增加了类胡萝卜素及花青

收稿日期: 2012-05-01

基金项目: 山东省自然科学基金 (2009ZRB01762); 山东省教育厅基金 (J11LC04); 聊城大学科研基金 (X0810024)。

第一作者简介: 吕志伟 (1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向为环境微生物。E-mail: laolv327@126.com。

通讯作者: 张文会 (1963-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为植物胁迫生理。E-mail: whzhang@luc.edu.cn。

素含量;CO₂浓度增加、UV-B 辐射增强复合处理对叶片色素含量及光合速率的影响具有复合效应^[1]。

本研究以2个大豆突变体为材料,在人工气候室内模拟大气CO₂浓度增加、UV-B 辐射增强及复合逆境胁迫环境,研究了它们对大豆UV-B 吸收物质、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)以及丙二醛与离子渗透率的影响,相关结果有助于进一步阐明大豆在逆境胁迫下的生理、生化响应机制,为大豆抗性品种的选育提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料培养

以遗传背景相同的根瘤超着生及完全不结瘤的2个大豆突变体0498和0701为材料。选取籽粒饱满,大小均匀的大豆种子2000粒,分别放在玻璃培养皿中于室温下浸种。待种子吸水膨胀后放置在25℃培养箱中催芽,选取胚根长度一致的发芽种子播种于长50 cm、宽40 cm、高30 cm的塑料箱中。箱内铺17 cm厚的大田土(除去2~3 cm的表层土),每箱施加硫酸钾型复合肥10 g。播种深度约为2 cm,每穴呈品字形播种3粒,每箱20穴。播种后放入人工气候室内培养,昼/夜室温分别为25℃和20℃,光照时间为8:00~20:00,光照强度约为600 μmol·m⁻²·s⁻¹,待长出第一对真叶后间苗,行距株距均为10 cm左右,每箱留苗20株。间苗后进行UV-B与CO₂处理。

1.2 UV-B与CO₂处理

试验设CO₂浓度倍增单独处理(CO₂)、UV-B 辐射增强单独处理(UV-B)、二者复合处理(CO₂+UV-B),并设对照(CK)。采用A、B 2个人工气候室,模拟CO₂浓度增高及UV-B 辐射增强的环境条件。A室内设置CO₂和CO₂+UV-B处理,B室内设置对照和UV-B处理。A室内利用CO₂供给装置24 h连续供给CO₂,CO₂处理浓度为700±100 μmol·mol⁻¹;B室只通入空气(CO₂浓度约为350 μmol·mol⁻¹)。A、B室内UV-B增强处理区均悬挂紫外灯管,UV-B照射灯具吊挂在植物体的正上方,调节灯具的高度(大约在植物上方20 cm处),以维持UV-B照射强度约为15 μW·cm⁻²,每天连续照射8 h。UV-B光源采用北京电光源研究所生产的最大放射波长为315 nm的紫外灯管,灯管周围(距灯管约5~8 cm)用双醋酸纤维素膜包裹,以除去290 nm以下的短波长的光。由于膜会老化,使透光性减弱,每14 d周更换1次;非UV-B增强处理区不安装紫外灯管^[1],UV-B照射强度为0。以上各处理均设6次重复(6箱)。在鼓粒期取样,进行相关测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 UV-B吸收物质的测定 取0.2 g叶片于试管中,然后加入10 mL酸化甲醇(甲醇:水:盐酸=70:29:1,v/v),参考Dai等的方法进行处理^[6],在尤尼柯UV2800型紫外分光光度计下做扫描光谱,测定波长300 nm下吸收值。以吸收值比叶片鲜重(A300·g⁻¹FW)作为UV-B吸收物质的相对含量。

1.3.2 保护酶活性测定 粗酶液的提取参照袁庆华等的方法^[7]。超氧化物歧化酶(SOD)采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[8]测定。以不加酶液的完全反应混合液作为空白对照,在560 nm下测定其吸光度。将其与对照相比,使吸光度降低50%所需要的酶量为一个酶活力单位(U),单位为U·min⁻¹·g⁻¹FW。过氧化物酶(POD)参照Chance和Maehly^[9]的方法测定。在470 nm处测定3 min内反应液吸光度值的变化。以光密度值改变0.01为一个酶活性单位(U),单位为U·min⁻¹·g⁻¹FW。

1.3.3 丙二醛(MDA)和膜透性的测定 膜脂过氧化物的含量以MDA的含量来表示,MDA含量采用Hodges等^[10]的方法测定。为了获得膜稳定性更多的相关信息,用离子渗漏法测定膜的通透性^[11]。每个处理中,选取5片发育完全的相同生长部位的叶片用于测定膜的通透性。叶片用去离子水清洗3次,以去除叶片表面附着的电介质,然后放到装有10 mL去离子水的具塞试管中,在25℃下振荡4 h,测定溶液的电导率(C1)。叶片100℃煮沸10 min,在25℃下平衡,获得电导率(C2)。离子渗漏用如下公式表示:离子渗漏(%)=(C1/C2)×100。

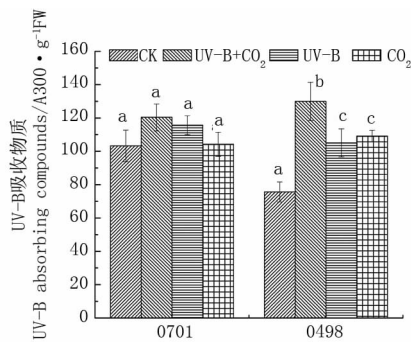
1.4 数据分析

采用Origin 8.0和SPSS 13.0进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 UV-B吸收物质积累

对大豆突变体0701,CO₂倍增对UV-B吸收物质积累无显著影响;UV-B辐射增强及二者复合处理能促进UV-B吸收物质积累的增加,但差异不显著($P<0.05$)(图1)。对于大豆突变体0498,CO₂倍增处理、UV-B处理及复合处理均增加了UV-B吸收物质的量,分别比对照增加44.4%、39.0%和71.9%,且都达到显著水平($P<0.05$),表明3种处理促进了突变株0498的UV-B吸收物质积累。对突变体0701与0498进一步比较发现,除对照处理下0701的UV-B吸收物质显著高于0498外,CO₂倍增和UV-B辐射增强及复合处理造成的差异均未达到显著水平。



不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Different normal letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$), the same as follow.

图1 CO₂倍增和 UV-B 辐射增强及

复合处理对大豆 UV-B 吸收物质积累的影响

Fig. 1 Effects of double CO₂, enhanced

UV-B radiation and their combination on UV-B absorbing compounds

2.2 SOD 和 POD 活性

由图 2 可见,与对照组相比,大豆突变体 0701 在 CO₂倍增处理、UV-B 增强处理及复合处理下, SOD 酶活性分别下降 14.5%、17.4% 和 25.5%,且都达到显著水平 ($P < 0.05$),表明上述 3 种处理对 SOD 酶活性有不同程度的抑制作用。突变体 0498 的 SOD 酶活性的变化分别为 -8.0%、27.3% 和 -1.3%,但只有 UV-B 处理下的变化达到显著水平 ($P < 0.05$)。进一步比较发现,突变体 0498 在 UV-B 增强处理下, SOD 酶的活性显著高于突变体 0701;其他处理下,2 个突变体间无显著差异。

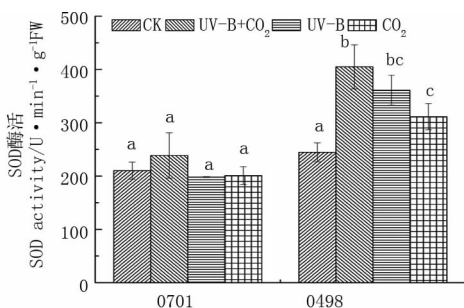


图2 CO₂倍增和 UV-B 辐射增强及

复合处理对大豆 SOD 的影响

Fig. 2 Effects of double CO₂, enhanced UV-B

radiation and their combination on SOD activity

由图 3 可见,突变体 0701 的 POD 酶活在 CO₂倍增处理、UV-B 增强及复合处理下的变化分别为 -4.4%、-5.7% 和 13.7%,但均未达到显著水平 ($P < 0.05$)。突变体 0498 在上述处理下,POD 酶活分别增加 27.3%、47.7% 和 65.6%,与对照相比均达到显著水平 ($P < 0.05$),表明上述处理均能促进突变体 0498 的 POD 酶活性增强。对 2 个突变体进行比较发现,突变体 0498 在 3 种处理

下的 POD 酶活性均显著高于同处理下突变体 0701 的活性。

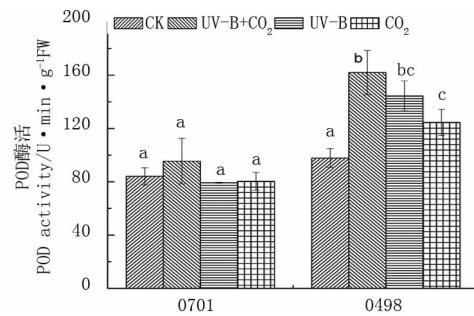


图3 CO₂倍增和 UVB 辐射增强及

复合处理对大豆 POD 酶活性的影响

Fig. 3 Effects of double CO₂, enhanced UV-B

radiation and their combination on POD activity

2.3 丙二醛 (MDA) 含量和膜透性

由图 4 可见,与对照相比,突变体 0701 在 CO₂倍增处理、UV-B 增强及复合处理下,MDA 含量变化分别为 -29.7%、18.4% 和 2.5%,且 CO₂倍增和 UV-B 处理都达到显著水平 ($P < 0.05$);突变体 0498 的 MDA 含量分别增加 2.3%、85.3% 和 62.7%,且 UV-B 处理和复合处理均达到显著水平 ($P < 0.05$)。可见,UV-B 增强使叶片 MDA 含量显著升高,而 CO₂倍增可使 MDA 含量有所降低,复合处理下的 MDA 含量也低于 UV-B 增强处理。在 3 种处理下,突变体 0498 的 MDA 含量均显著低于突变体 0701。

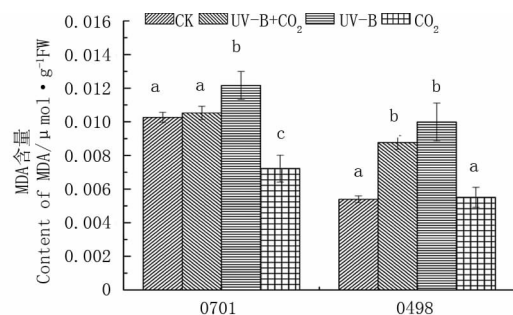


图4 CO₂倍增和 UV-B 辐射增强及

复合处理对大豆丙二醛含量的影响

Fig. 4 Effects of double CO₂, enhanced

UV-B radiation and their combination on MDA content

由图 5 可见,突变体 0701 的离子渗漏率在 CO₂倍增处理、UV-B 增强及复合处理下的变化分别为 -4.2%、6.4% 和 3.7%,但均未达到显著水平 ($P < 0.05$)。大豆突变体 0498 在 3 种处理下的变化分别为 -10.1%、12.7% 和 -4.0%,但只有 UV-B 处理达到显著水平 ($P < 0.05$)。对 2 个突变体进行比较发现,突变体 0498 的离子渗漏率在 UV-B 增强处理下略高于突变体 0701 (增加 8.3%),其它处理下则无显著变化。

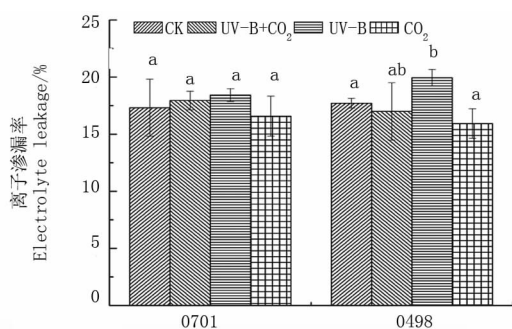


图5 CO₂倍增和 UV-B 辐射增强及

复合处理对离子渗透率的影响

Fig.5 Effects of double CO₂, enhanced UV-B radiation and their combination on electrolyte leakage

3 讨论

研究表明,UV-B 辐射增强对植物影响最一致的是植物叶片中紫外吸收物质含量的增加^[12]。紫外吸收物质主要是酚类化合物如类黄酮、黄酮醇、花色苷等。其中类黄酮是最主要的吸收物质,它在植物中能形成一道理想的天然屏障,可以减少 UV-B 辐射对植物自身的伤害^[13]。相对于各自的对照组,突变体 0498 在 3 种处理下,UV-B 吸收物质积累显著升高,而突变体 0701 则无显著性变化,表明突变体 0498 对 3 种处理的响应较为敏感。

UV-B 辐射对膜伤害的解释主要为自由基伤害学说。UV-B 辐射可诱导活性氧自由基如 O₂⁻、H₂O₂ 等的产生,导致膜脂质过氧化。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)等是清除自由基的重要酶系,丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一。较多的 MDA 累积意味着脂质过氧化程度的加重,而 MDA 本身又作为一种高活性的脂质类过氧化物,它能交联糖类,核酸及蛋白质,从而进一步对生物膜的结构和功能造成一定的影响,使膜的选择透过性下降,导致电解质外渗,离子渗漏率明显升高^[14]。因此,SOD 活性、POD 活性、MDA 含量及离子渗漏率是衡量植物在逆境中膜脂过氧化的重要指标。

本研究中,3 种处理对 SOD 活性多表现为抑制作用,相对而言,超结瘤突变体 0498 受抑制的程度小于 0701,且 UV-B 增强甚至促进了其 SOD 活性的增加。在 POD 酶的活性上,2 个突变体间的差别更加显著。另外,突变体 0498 的 MDA 含量,无论对照组还是 3 种处理下的增加幅度均低于 0701;离子渗漏率上的差异则很小。这些结果均表明 0498 的抗性优于 0701,分析超量结根瘤可能是导致其抗性提高的因素之一。对 5 种抗性指标的结果进行综合分析,发现 CO₂ 倍增能提高植株的抗性,UV-B 增

强则引起植株的抗逆反应,复合处理下植株的响应则较单一处理复杂,无明显规律。

参考文献

- [1] 张文会,刘立科,苗秀莲,等. CO₂ 倍增及 UV-B 增强对大豆植株生长和根际微生物的影响[J]. 西北植物学报,2009,29(4):724-732. (Zhang W H, Liu L K, Miao X L, et al. Effects of doubled carbon dioxide and enhanced UV-B radiation on growth and rhizosphere microorganisms in soybean (*Glycine max* Merr.) [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(4): 724-732.)
- [2] Ros J, Tevini M. Interaction of UV-radiation and IAA during growth of seedling and hypocotyls segments of sunflower[J]. Journal of Plant Physiology, 1995, 146:295-302.
- [3] Poorter H. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO₂ concentration [J]. Plant Ecology, 1993, 104:77-79.
- [4] 张朋,张文会,苗秀莲,等. CO₂ 浓度倍增对大豆生长及光合作用的影响[J]. 大豆科学,2010,29(1):60-63. (Zhang P, Zhang W H, Miao X L, et al. Effects of doubled CO₂ concentration on growth and photosynthesis of soybean [J]. Soybean Science, 2010, 29(1):60-63.)
- [5] 张文会,张朋,刘立科,等. 紫外线 B 辐射增强对大豆生长及光合作用相关指标的影响[J]. 大豆科学,2009,28(2):229-232. (Zhang W H, Zhang P, Liu L K, et al. Effects of enhanced UV-B radiation on growth and photosynthesis in soybean (*Glycine max* Merr.) [J]. Soybean Science, 2009, 28(2):229-232.)
- [6] Dai Q, Furness N H, Upadhyaya M K. UV-absorbing compounds and susceptibility of weedy species to UV-B radiation [J]. Weed Biology and Management, 2004, 4:95-102.
- [7] 袁庆华,桂枝,张文淑. 苜蓿抗褐斑病品种内超氧化物歧化酶、过氧化物酶和多酚氧化酶活性的比较[J]. 草业学报,2002,11(2):100-104. (Yuan Q H, Gui Z, Zhang W S. Comparison of the activities of SOD, POD and PPO within alfalfa cultivars resistant and susceptible to alfalfa common leaf [J]. Acta Pratacul-turae Sinica, 2002, 11(2):100-104.)
- [8] Becana M, Aparicio-tejo P, Irigoyen J J, et al. Some enzymes of hydrogen peroxide metabolism in leaves and root-nodules of *Medicago sativa* [J]. Plant Physiology, 1986, 82:1169-1171.
- [9] Chance B, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases [J]. Methods in Enzymology, 1955, 2:764-775.
- [10] Hodges M D, DeLong J M, Forney C F, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds [J]. Planta, 1999, 207:604-611.
- [11] Sukumaran N P, Weiser C J. An excised leaflet test for evaluating potato frost tolerance [J]. Hort Science, 1972, 7:467-468.
- [12] Jin H, Cominelli E, Bailey P, et al. Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis* [J]. The EMBO Journal, 2000, 19:6150-6161.
- [13] Bassman J H, Edwards G E, Robberecht R. Long-term exposure to enhanced UV-B radiation is not detrimental to growth and photosynthesis in Douglas-fir [J]. New Phytologist, 2002, 154:107-120.
- [14] 林文洁,陈丽晖. 植物体中的自由基[J]. 海南大学学报(自然科学版), 1998, 16(4):370-375. (Lin W J, Chen L H. Free radicals in plant body [J]. Natural Science Journal of Hainan University, 1998, 16(4):370-375.)