

大豆种子发芽期耐旱性鉴定的适宜 PEG - 6000 浓度筛选

舒英杰,周玉丽,时侠清,胡能兵,邵庆勤,杜军利

(安徽科技学院 农学院,安徽 凤阳 233100)

摘 要:以抗旱性不同的 3 个大豆品种(湘豆 3 号、Lee68 和宁镇 1 号)为试材,研究了不同浓度(5%、10%、15%、20%、25% 和 30%)的 PEG - 6000 模拟发芽期干旱胁迫对大豆种子发芽、子叶苗膜脂过氧化以及渗透调节物质含量的影响。结果表明:10% 以下的 PEG - 6000 能起引发作用,促进大豆种子的萌发,显著提高发芽势和发芽率;随着 PEG - 6000 浓度的升高,大豆种子的发芽明显受抑制,当 PEG - 6000 浓度大于 25% 时抑制更明显,发芽势、发芽率、发芽指数和简易活力指数显著下降;随着 PEG - 6000 浓度的升高,大豆子叶苗中的丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、可溶蛋白和可溶性糖含量显著增加,PEG - 6000 浓度在 15% ~ 25% 间增加幅度最大,PEG - 6000 浓度小于 15% 或大于 25% 时增加不明显。综合种子发芽、子叶苗的膜脂过氧化程度以及渗透调节物质含量的变化,可初步确定室内采用 PEG - 6000 浸种法模拟干旱胁迫鉴定大豆发芽期耐旱性的适宜浓度为 20% ~ 25%。

关键词:大豆;PEG - 6000;干旱胁迫;发芽期;耐旱性

中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2015. 01. 0056

Screening of Appropriate PEG - 6000 Concentration for the Identification of Soybean Drought Tolerance at Germination Stage

SHU Ying - jie, ZHOU Yu - li, SHI Xia - qing, HU Neng - bing, SHAO Qing - qin, DU Jun - li

(Agricultural College of Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China)

Abstract: Three soybean varieties(Ningzhen 1, Lee68 and Xiangdou 3) were used to study the effect of different PEG - 6000 concentrations (5%, 10%, 15%, 20%, 25% and 30%) on germination of soybean seed, membrane lipid peroxidation and osmotic substances of soybean seedlings. Results showed that when the PEG - 6000 concentration less than 10%, which can promote soybean seeds germination, improve the germination potential and germination rate significantly. When the PEG - 6000 concentrations were more than 25%, with the increasement of PEG - 6000 concentration, germination potential, germination rate, germination index and simple vigor index of soybean seed decreased significantly. The contents of malondialdehyde (MDA), proline (Pro), soluble protein and soluble sugar increased significantly with the PEG - 6000 concentration increased, especially when the PEG - 6000 concentration was between 15% and 25%. We can conclude preliminarily that the appropriate PEG - 6000 concentration for the identification of soybean drought tolerance in seed germination stage was 20% - 25% by synthesizing seed germination, membrane lipid peroxidation and the content change of osmotic substances.

Keywords: Soybean(*Glycine max*); Polyethylene glycol (PEG - 6000); Drought stress; Germination stage; Drought tolerance

大豆抗旱性鉴定是大豆遗传育种研究工作的主要内容之一,目前人们在大豆品种抗旱性鉴定及抗旱品种选育等方面做出了许多富有成效的工作,主要体现在不同发育时期抗旱大豆品种的筛选及鉴定^[1-4],形态、发芽及生理指标与大豆抗旱性的关系^[3,5]等方面。这些研究为大豆的抗旱育种提供许多宝贵的资源,但是大多数是对大豆品种苗期或花期的抗旱性进行鉴定,而我国北方的春播大豆以及江淮流域的夏播大豆,在播种后出苗前经常会遭受短期干旱胁迫,常常导致播后出苗不齐、秧苗质量差,从而影响产量。因此,大豆发芽期耐旱性研究也是大豆抗旱育种不容忽视的问题。

目前人们普遍利用聚乙二醇(PEG)高渗溶液模拟干旱胁迫来研究种子萌发期的抗旱性。研究表明,低浓度的 PEG 具有渗透调节功能,通过控制种子缓慢吸水,使种子膜系统得以修复,从而促进种子萌发;高浓度的 PEG 则会造成干旱胁迫,导致种子吸水困难^[6-7]。有关 PEG 对大豆种子发芽影响的研究更多地集中在 PEG 引发提高大豆种子萌发和抗逆性等方面^[6-10],有关室内 PEG 模拟干旱胁迫对大豆种子发芽的影响研究相对较少^[11],而有关大豆发芽期耐旱性鉴定的适宜 PEG - 6000 浓度,目前尚无定论。

本试验通过利用不同浓度的 PEG - 6000 模拟大豆发芽期持续干旱的环境条件,对抗旱性差异明显的 3 个大豆品种种子的萌发及子叶苗中 MDA、Pro、可溶性糖和可溶性蛋白等含量的差异进行了研究,探讨抗旱性不同的大豆品种经不同浓度 PEG - 6000 处理后发芽及相应生理指标的变化规律,以期筛选出适用于大豆发芽期耐旱性鉴定的适宜 PEG - 6000 浓度范围,为筛选发芽期抗旱性大豆种质及大豆的

抗旱育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以抗旱性不同的 3 个大豆品种为材料,分别为湘豆 3 号(抗旱性强)、Lee68(抗旱中等)和宁镇 1 号(抗旱性差)。试验材料于 2013 年种植,完熟后人工脱粒,种子干燥后(含水量 7% 左右)贮藏备用。

1.2 试验设计

每个品种精选大小一致、籽粒饱满、无破损的种子 200 粒,用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min,蒸馏水冲洗 2~3 次置于长×宽×高为 19 cm×14 cm×10 cm 的发芽盒中,采用纸间发芽法,纸床用不同浓度[5%、10%、15%、20%、25% 和 30% (W/W)] 的 PEG - 6000 溶液 20 mL 湿润,以等量蒸馏水处理为对照(CK)。置于人工气候培养箱中恒温恒湿(25℃、RH70%)下催芽,每处理 4 次重复,每重复 50 粒。催芽期间用各处理对应浓度的 PEG - 6000 保持发芽床的湿润,使大豆种子在发芽期间持续处于模拟干旱条件。从种子置床之日起开始逐日统计发芽种子数,计算发芽势、发芽率、发芽指数和简易活力指数,至第 8 天发芽结束时,测定子叶苗的 MDA、Pro、可溶性糖和可溶性蛋白含量等生理指标。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 发芽相关指标 按农作物发芽技术规定(GB/T35434-1995),第 5 天统计种子发芽势,第 8 天统计发芽率。发芽势(GE) = 第 5 天发芽种子数/供试种子数×100%;发芽率(GR) = 第 8 天发芽种子数/供试种子数×100%;发芽指数(GI) = $\sum (DG/DT)$, DG 为逐日发芽数,DT 为相应 DG 的发芽天数;简易活力指数(VI) = GR×幼苗长度(cm)。

1.3.2 相关生理指标 取各处理发芽第 8 天的子叶苗,参考文献李合生^[12]的方法测定 MDA、Pro、可溶性糖和可溶性蛋白含量,MDA 含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定,Pro 含量采用磺基水杨酸法测定,可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 对试验数据进行整理分析,用 DPS 7.05 对试验数据进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 PEG - 6000 对大豆种子发芽的影响

由图 1 可知,随着 PEG - 6000 浓度的升高,3 个大豆品种的发芽明显受抑制,低浓度(10% 以下)的 PEG - 6000 对大豆种子发芽的影响不明显,PEG - 6000 浓度超过 15% 时明显抑制了大豆种子的萌发及子叶苗的生长,当 PEG - 6000 浓度超过 25% 时,抑制作用更明显,且抗旱性不同的大豆品种受抑制

的程度明显不同,抗旱性强的湘豆 3 号受抑制程度明显小于抗旱性差的宁镇 1 号。

发芽势、发芽率、发芽指数和简易活力指数是评价种子发芽的常用量化指标。由表 1 可知,随着 PEG - 6000 浓度的增加,3 个品种的发芽势和发芽率呈先升后降的趋势,说明低浓度的 PEG - 6000 对大豆种子有引发作用;当 PEG - 6000 浓度大于 20% 时,3 个品种的发芽势和发芽率显著低于 CK,且 3 个品种间的发芽势和发芽率差异显著,湘豆 3 号> Lee68> 宁镇 1 号。随着 PEG 浓度的升高,3 个品种的发芽指数和简易活力指数均显著下降;在相同的 PEG - 6000 浓度下,湘豆 3 号的发芽指数和简易活力指数大于 Lee68 和宁镇 1 号。

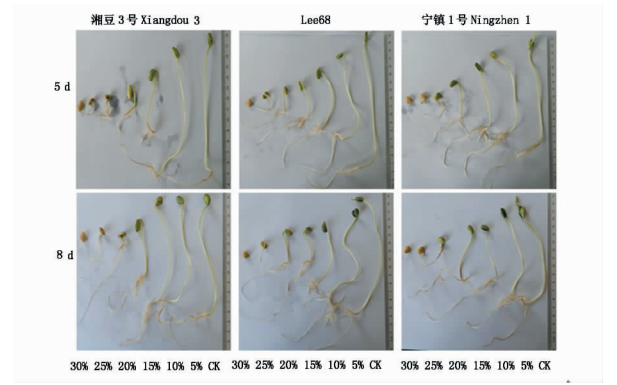


图 1 不同浓度 PEG - 6000 处理对大豆种子发芽的影响
Fig. 1 Effect of different concentration PEG - 6000 on germination of soybean seeds

2.2 不同浓度 PEG - 6000 对大豆子叶苗膜脂过氧化的影响

MDA 是细胞膜脂过氧化的主要产物,表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。由图 2A 可知,随着 PEG - 6000 浓度的升高,MDA 含量总体呈升高趋势,其中当 PEG - 6000 浓度为 10%~15% 时增幅度最大,超过 25% 时增幅减小;不同品种间的 MDA 含量存在差异,湘豆 3 号的 MDA 含量最低, Lee68 最高。

2.3 不同浓度 PEG - 6000 对大豆子叶苗渗透调节物质含量的影响

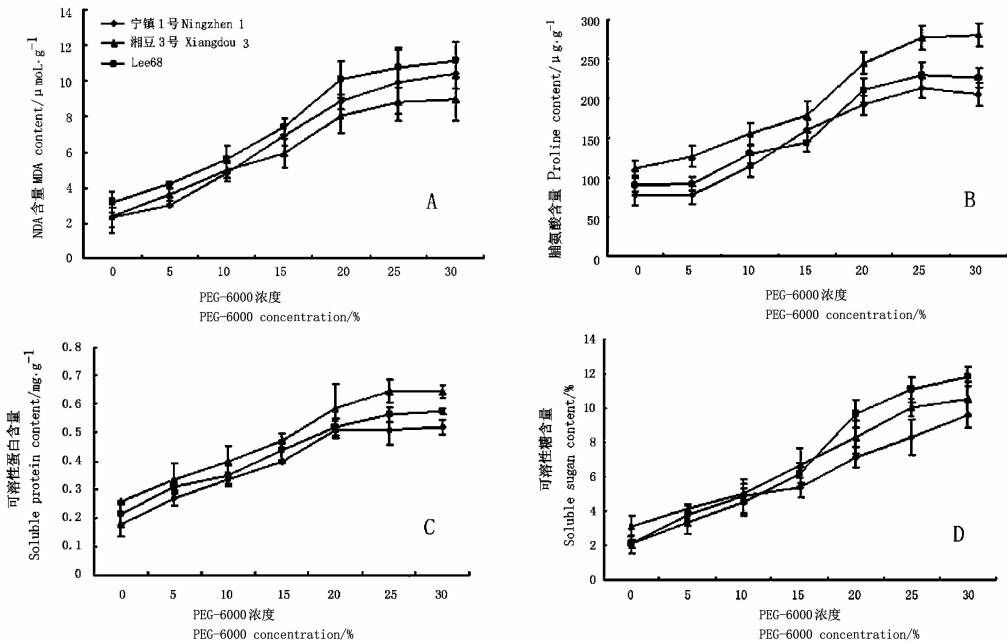
2.3.1 脯氨酸 作为一种渗透调节物质,Pro 是最常见的衡量植物抗旱性的指标之一,在干旱胁迫时,大部分植物中 Pro 积累增加,且抗旱品种增加的幅度显著大于不抗旱品种。图 2B 表明,随着 PEG - 6000 浓度的升高,3 个大豆品种子叶苗的 Pro 含量均呈上升趋势,当 PEG - 6000 浓度小于 15% 和大于 25% 时增加的幅度较小,PEG - 6000 浓度在 15%~25%, Pro 含量增加较快;就不同品种而言,在各处理浓度下,湘豆 3 号的含量均最高,显著高于宁镇 1 号和 Lee68。

表 1 不同浓度 PEG - 6000 对大豆种子发芽指标的影响

Table 1 Effect of different concentration PEG - 6000 on germination indexes of soybean seeds

发芽指标 Germination indexes	品种 Cultivar	PEG 浓度 PEG concentration						
		0	5%	10%	15%	20%	25%	30%
发芽势 Germination potential / %	湘豆 3 号 Xiangdou 3	97.00 a	98.33 a	98.33 a	98.33 a	96.67 a	84.17 b	—
	Lee68	96.67 a	97.50 a	97.50 a	97.50 a	95.83 a	67.50 b	—
	宁镇 1 号 Ningzhen 1	94.17 a	95.00 a	96.67 a	95.83 a	94.17 a	47.50 b	—
	湘豆 3 号 Xiangdou 3	98.00 a	98.33 a	99.17 a	98.33 a	95.83 b	92.67 c	87.50 d
发芽率 Germination rate / %	Lee68	96.67 a	97.50 a	97.67 a	96.67 a	95.17 a	90.00 b	70.00c
	宁镇 1 号 Ningzhen 1	95.83 a	97.50 a	97.50 a	95.00 a	94.17 a	84.17 b	6.67 c
	湘豆 3 号 Xiangdou 3	95.80 a	81.06 b	70.09 c	67.12 c	61.72 d	33.69 e	8.44 f
	Lee68	79.71 a	69.90 b	67.57 b	59.33 c	48.91 d	27.48 e	6.40 f
发芽指数 Germination index	宁镇 1 号 Ningzhen 1	81.97 a	70.50 b	66.09 b	57.93 c	42.59 d	19.18 e	0.33 f
	湘豆 3 号 Xiangdou 3	17.96 a	13.54 b	10.15 c	10.18 c	5.65 d	5.63 d	1.39 e
	Lee68	15.59 a	13.38 b	10.44 c	7.94 d	2.44d e	2.28 e	1.06 f
	宁镇 1 号 Ningzhen 1	14.27 a	13.29 a	9.51 b	6.62 c	2.54 d	2.26 d	—
简易活力指数 Simple vigor index	湘豆 3 号 Xiangdou 3	17.96 a	13.54 b	10.15 c	10.18 c	5.65 d	5.63 d	1.39 e
	Lee68	15.59 a	13.38 b	10.44 c	7.94 d	2.44d e	2.28 e	1.06 f
	宁镇 1 号 Ningzhen 1	14.27 a	13.29 a	9.51 b	6.62 c	2.54 d	2.26 d	—
	宁镇 1 号 Ningzhen 1	14.27 a	13.29 a	9.51 b	6.62 c	2.54 d	2.26 d	—

表中不同小写字母表示不同浓度下指标差异达显著水平 ($P < 0.05$), “—”表示未发芽。
Different letters meant significant difference among different concentrations at 0. 05 level, “—” meant no germination.



A ~ D 分别代表 MDA、Pro、可溶性蛋白和可溶性糖含量。
A - D mean contents of MDA, Pro, soluble protein and soluble sugar, respectively.

图 2 不同浓度 PEG - 6000 处理对大豆子叶苗部分生理指标的影响

Fig. 2 Effect of different concentration PEG - 6000 on several physical indexes of soybean seedlings

2.3.2 可溶性蛋白 可溶性蛋白是细胞及各种细胞器基质的主要组成,在细胞生理代谢过程中起重要的催化功能,其含量的多少在一定程度上反映了植物内部代谢的活跃程度,高含量的可溶性蛋白可使细胞维持较低的渗透势,抵抗水分等逆境胁迫带来的伤害。随着 PEG - 6000 浓度的升高,3 个大豆品种的可溶性蛋白含量呈均升高趋势,当 PEG - 6000 浓度大于 20% 时可溶性蛋白含量增加不明显;相同 PEG - 6000 浓度下,

湘豆 3 号可溶性蛋白含量明显高于其他两个品种, 宁镇 1 号含量最低(图 2C)。

2.3.3 可溶性糖 植物为了适应干旱、低温等逆境条件, 会主动积累一些可溶性糖, 降低渗透势和冰点, 以适应外接环境条件的变化。随着 PEG - 6000 浓度的升高, 3 个大豆品种子叶苗可溶性糖含量均呈上升趋势, 当 PEG - 6000 浓度超过 25% 时上升不明显; PEG - 6000 浓度在 15% 以内, 3 个品种子叶苗可溶性糖含量差异不明显, 当 PEG 浓度大于 15% 后, 3 个品种的差异较明显, 其中宁镇 1 号的最低(图 2D)。

3 结论与讨论

大豆是对干旱最为敏感的作物之一, 挖掘抗旱种质资源是开展大豆抗旱育种的基础^[13], 而对不同生态类型大豆抗旱性鉴定方法的研究更是迫切需要解决的问题^[14], 目前有关大豆抗旱性鉴定的主要方法是室内模拟干旱胁迫和盆栽控制浇水干旱胁迫。高小宽等^[15]研究了不同浓度(0, 5, 20, 25, 30 g · L⁻¹) PEG 对野生大豆和栽培大豆种子萌发和幼苗生长影响, 结果发现, 发芽率、幼苗长势均与 PEG 浓度呈负相关。顾龚平等^[8]采用 10%、15%、20%、25%、30% 的 PEG - 6000 浸润大豆种子, 结果表明 PEG - 6000 能显著提高种子萌发率和幼苗活力, 降低吸水萌发时的外渗电导率, 其中以 20% PEG (W/W) 处理 8 h 效果最为显著。杨剑平等^[11]比较了 5%、10%、15%、20%、25% 的 PEG - 6000 处理 1 片复叶完全伸展开时的大豆植株体内 NR、CAT、POD 活性以及叶绿素、游离脯氨酸含量的变化情况, 结果表明, 实验室模拟干旱处理的最佳 PEG - 6000 浓度为 15%。本研究用 0、5%、10%、15%、20%、25% 和 30% (W/W) 的 PEG - 6000 对耐旱性不同的 3 个大豆品种进行浸种处理, 通过对发芽势、发芽率、发芽指数和简易活力指数等发芽指标, 子叶苗膜脂过氧化的程度 (MDA 含量) 以及脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋等渗透调节物质含量的比较分析, 认为室内采用模拟干旱胁迫法鉴定大豆发芽期耐旱性的适宜 PEG - 6000 浓度为 20% ~ 25%。本研究的结论与前人的研究不一致, 主要有两方面的原因: 一是选用 PEG 的分子量大小不同, 本试验选用的是 PEG - 6000, 分子量与 PEG - 4000 不同, 其聚合度、吸水性及凝固点等都不同, 所以得出的结论可能会存在差异; 二是 PEG 处理大豆的方法不一样, 前人较多的是用不同浓度的 PEG 处理水培或盆栽的大豆幼苗, 而本研究是用不同浓度的 PEG - 6000 直接浸种, 并使大豆种子在发芽期间一直处于模拟干旱胁迫的环境下, PEG 的作用机制可能不一样, 所以结论可能不一致。

参考文献

[1] 谢皓, 朱世明, 包子敬, 等. 干旱胁迫下大豆品种抗旱性评价与筛选[J]. 北京农学院学报, 2008, 28(3): 7 - 11. (Xie H, Zhu S M, Bao Z J, et al. Identification and selection of soybean drought resistant variety on the drought intimidation[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2008, 28(3): 7 - 11.)

[2] 吴伟, 陈学珍, 谢皓, 等. 干旱胁迫下大豆抗旱性鉴定[J]. 分子植物育种, 2005, 3(2): 188 - 194. (Wu W, Chen X Z, Xie H, et al. Drought resistance appraisal of the soybean varieties in forced arid

conditions[J]. Molecular Plant Breeding, 2005, 3(2): 188 - 194.)

[3] 陈学珍, 谢皓, 郝丹丹, 等. 干旱胁迫下 20 个大豆品种芽期抗旱性鉴定初报[J]. 北京农学院学报, 2005, 20(3): 54 - 56. (Chen X Z, Xie H, Hao D D, et al. Drought resistance evaluation of 20 soybean at bud stage[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2005, 20(3): 54 - 56.)

[4] 李贵全, 刘建兵, 李玲, 等. 大豆品种抗旱性综合评价[J]. 应用生态学报, 2006, 17(12): 2408 - 2412. (Li G Q, Liu J B, Li L, et al. Comprehensive evaluation on drought - resistance of different soybean varieties[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(12): 2408 - 2412.)

[5] 王敏, 杨万明, 侯燕平, 等. 不同类型大豆花荚期抗旱性形态指标及其综合评价[J]. 核农学报, 2010, 24(1): 154 - 159. (Wang M, Yang W M, Hou Y P, et al. Morphological indexes of drought resistance of soybean accessions and its comprehensive evaluation on flowering and podding stage[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences[J]. 2010, 24(1): 154 - 159.)

[6] 梁峥, 赵原, 郑光华, 等. 聚乙二醇处理大豆种子子叶中几种酶活性和可溶性蛋白含量的变化[J]. 植物生理学报, 1991, 17(1): 20 - 24. (Liang Z, Zhao Y, Zheng G H, et al. Changes of activities of several enzymes and soluble protein contents in PEG osmoregulated soybean cotyledon[J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 1991, 17(1): 20 - 24.)

[7] 张荣平, 王振谧, 高俊凤, 等. PEG 处理大豆种子对下胚轴脂氧合酶活性及脯氨酸含量的影响[J]. 西北植物学报, 1993, 13(2): 103 - 108. (Zhang R P, Wang Z M, Gao J F, et al. Effect of PEG treatment of soybean seed on the lox activity and proline content in soybean hypocotyl[J]. Acta Botany Boreal - Occident Sinica, 1993, 13(2): 103 - 108.)

[8] 顾龚平, 吴国荣, 陆长梅, 等. PEG 处理对大豆幼苗活力及活性氧代谢的影响[J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(2): 26 - 30. (Gu G P, Wu G R, Lu C M, et al. Effect of PEG on vigour index and active oxygen metabolism in soybean seeds[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2000, 22(2): 26 - 30.)

[9] Li X, Yang Y Q, Zhang M, et al. Effect of PEG priming on plasma membrane H⁺-ATPase activities and mitochondrion function in soybean seeds[J]. Seed Science and Technology, 2010, 38(1): 49 - 60.

[10] 王曙光, 赵建奎, 宁幸莲, 等. PEG - 6000 引发对老化大豆种子膜透性及保护性酶活性的影响[J]. 华北农学报, 2012, 27(6): 113 - 117. (Wang X G, Zhao J K, Ning X L, et al. Effect of PEG - 6000 priming on seed membrane permeability and the activity of protection enzyme of aging soybean[J]. Acta Agriculturae Boreali - Sinica, 2012, 27(6): 113 - 117.)

[11] 杨剑平, 陈学珍, 王文平, 等. 大豆实验室 PEG6000 模拟干旱体系的建立[J]. 中国农学通报, 2003, 19(3): 65 - 68. (Yang J P, Chen X Z, Wang W P, et al. The establishment of the simulated system of drought for soybean in laboratory[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2003, 19(3): 65 - 68.)

[12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. (Li H S. Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.)

[13] 刘学义, 张小虎. 黄淮海地区大豆种质资源抗旱性鉴定及其研究[J]. 山西农业科学, 1993, 21(1): 19 - 24. (Liu X Y, Zhang X H. Studies and evaluation on drought - tolerance of soybean germplasm from Huang - Huai - Hai valleys[J]. Journal of Shanxi Agricultural Science, 1993, 21(1): 19 - 24.)

[14] 李贵全, 杜维俊, 孔照胜, 等. 不同大豆品种抗旱生理生态的研究[J]. 山西农业大学学报, 2000, 20(3): 197 - 200. (Li G Q, Du W J, Kong Z S. Studies on physiological drought resistance of different soybean varieties[J]. Journal of Shanxi Agricultural University, 2000, 20(3): 197 - 200.)

[15] 高小宽, 刘国杰, 白丽荣. 聚乙二醇(PEG)模拟干旱胁迫对野生大豆与栽培大豆萌发的影响[J]. 大豆科学, 2012, 31(6): 1027 - 1029. (Gao X K, Liu G J, Bai L R. Effect of polyethylene glycol(PEG) simulated drought stress on seed germination of wild and cultivated soybeans[J]. Soybean Science, 2012, 31(6): 1027 - 1029.)