



基于表型和抗氧化酶活性的大豆萌芽期耐盐性鉴定

李照君^{1,2}, 田汝美², 官永超², 蒲艳艳², 徐 冉³, 李娜娜², 丁汉凤²

(1. 山东师范大学 生命科学学院, 山东 济南 250014; 2. 山东省农作物种质资源中心, 山东 济南 250100; 3. 山东省农业科学院 作物研究所, 山东 济南 250100)

摘 要:为促进在大豆种植初期以表型和抗氧化酶活性评价和筛选耐盐大豆资源,缓解山东省土壤盐渍化对大豆生产的影响,以山东省9份主推大豆品种为材料,在其萌芽期进行4个梯度NaCl胁迫处理,测定其表型指标、抗氧化酶活性和耐盐性,并分析各指标与品种耐盐性的相关性,探究综合评价大豆品种耐盐性的表型和抗氧化酶指标。结果表明:NaCl胁迫浓度高于1%可显著降低大豆发芽率、胚根长和须根数;随着盐浓度不断升高,抗氧化酶活性呈下降趋势,且与对照抗氧化酶活性差异显著;品种耐盐性分级与盐胁迫浓度相关,耐盐品种菏豆28、齐黄34在不同NaCl胁迫条件下始终维持较高水平的抗氧化酶活性;SOD活性是大豆萌芽期耐盐性鉴定评价的重要指标,胚根长、须根数及CAT、POD活性是高浓度NaCl胁迫(1% NaCl)下,大豆耐盐性评价的关键指标。本研究为大豆耐盐性的快捷鉴定评价提供选择指标和数据支撑,能够促进耐盐大豆种质创新及优良亲本筛选。

关键词:大豆;耐盐性鉴定;表型;抗氧化酶活性;相关性分析

Identification of Salt Tolerance of Soybean in Germination Stage Based on Phenotype and Antioxidant Enzyme Activity

LI Zhao-jun^{1,2}, TIAN Ru-mei², GONG Yong-chao², PU Yan-yan², XU Ran³, LI Na-na², DING Han-feng²

(1. School of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China; 2. Shandong Center of Crop Germplasm Resources, Jinan 250100, China; 3. Crop Research Institute of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: In order to evaluation and screening soybean resources of salt-tolerant at early planting stage to alleviate the impact of soil salinization on soybean production in Shandong province, this study selected 9 main soybean varieties in Shandong province as materials, and carried out four gradient NaCl stress treatments in the germination stage. We measured the phenotypic indexes, antioxidant enzyme activities and salt tolerance of soybean at different NaCl stress, and then investigated the correlation of these indexes with salt tolerance of the varieties. The results showed that the germination rate, radicle length and number of fibrous roots of soybean were significantly reduced when the treatment of NaCl stress concentration was higher than 1%. As the salt concentration increased, the activity of antioxidant enzymes showed a downward trend and was significantly different from the antioxidant enzyme activity of the control group. Salt tolerance grading of varieties was relative with salt stress concentration, the antioxidant enzyme activity of salt-tolerant varieties Hedou 28 and Qihuang 34 maintained high level under different NaCl stress conditions. SOD activity was an important indicator for the evaluation of soybean salt tolerance at germination stage. The radicle length, number of fibrous roots and CAT, POD activity were the key indicators for the evaluation of salt tolerance at high concentration NaCl stress (1% NaCl). This study provides selecting index and data support for the evaluation of salt tolerance of soybean in the most economical and effective way, and can promote the screening of excellent parent material for the innovation of salt-tolerant soybean germplasm.

Keywords: Soybean; Salt tolerance identification; Phenotype; Antioxidant enzyme activity; Correlation analysis

大豆是世界上重要的油料作物和人类最主要的植物蛋白源,在粮食供给和农业生产中占重要地位^[1-3]。山东省是我国黄淮海夏大豆主要种植区域之一,盐渍危害是影响该地区大豆生产的重要非生物胁迫因子。大豆属于中性耐盐植物^[4],在土壤盐

含量超过0.3%的环境中生长就会受到严重损害,正常的生理生化活动及生长发育进程也因土壤盐渍化而受到抑制,并直接影响其产量和品质^[5]。因此,鉴定并筛选耐盐品种,是缓解土壤盐渍化对大豆生产影响最经济有效的方法。

收稿日期:2019-07-02

基金项目:山东省农业良种工程(2019LZGC004,2019LZGC017);山东省农业科学院创新工程(CXGC2016A02,2019E15);山东省现代农业产业技术体系杂粮创新团队(SDAIT-15-01)。

第一作者简介:李照君(1993-),女,硕士,主要从事植物生理与分子生物学研究。E-mail: ydlizhaojun@163.com。

通讯作者:丁汉凤(1963-),男,博士,研究员,主要从事农作物种质资源收集保护与创新应用研究。E-mail: dinghf2005@163.com;

李娜娜(1981-),女,博士,副研究员,主要从事作物种质资源鉴定与评价研究。E-mail: qyzl127@163.com。

鉴定时期和鉴定指标的确定是评价作物耐盐性的基础和筛选优良耐盐品种的关键^[6]。大豆种子萌芽期耐盐性与植株生长后期的耐盐性高度一致。大豆萌芽期耐盐性鉴定,即可确定大豆品种全生育期抗盐性,鉴定周期短,鉴定方法简便快捷^[7]。牛远等^[8]对 4 份大豆品种进行耐盐性鉴定,明确了萌芽期大豆主根长、下胚轴长与总耐盐指数显著相关,可作为大豆芽期耐盐鉴定指标。姜奇彦等^[9]对 793 份大豆进行芽期、苗期和全生育期耐盐性鉴定,结果表明品种生物量和籽粒重可作为耐盐鉴定指标。曹帅等^[10]对 18 份大豆品种萌芽期的生长指标进行耐盐性主成分分析,主根长的贡献率比其它生长指标大,对大豆耐盐碱性的影响较大,因此可作为大豆耐盐碱评价的重要指标。

盐渍胁迫条件下,植物可通过维持较高的保护酶活性增强活性氧清除能力,减轻活性氧伤害,因此保护酶活性已成为作物耐盐胁迫的重要生理指标^[11-12]。植物的抗氧化酶类系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等^[13-14]。盐胁迫能够改变抗氧化酶水平,提高抗逆性^[15-17]。李超汉等^[18]对菜用大豆耐盐生理机理研究表明,在盐胁迫下各品种 POD 活性比对照组显著提高。杨艳丽等^[19]研究表明,转基因大豆植株与非转基因大豆相比,具有较高的 SOD、POD、CAT 酶活性,对盐胁迫的耐受性也显著高于非转基因大豆。肖朝霞^[20]的研究结果显示,盐胁迫下大豆幼苗的 SOD、POD 酶活性均高于对照组,且随着盐浓度升高都有上升的趋势。因此,盐胁迫条件下,大豆抗氧化酶活性有助于保护植物免受活性氧的损害,缓解植物的逆境损伤。

目前,有关大豆萌芽期耐盐性鉴定研究较多,但耐盐性评价指标没有统一标准,测定指标与品种耐盐性相关性较差。不同盐浓度胁迫下,利用表型和抗氧化酶指标综合评价大豆品种耐盐性鲜见报道。本研究以山东省大面积推广应用的齐黄 34、临豆 10 号、菏豆 28 号等 9 个品种为材料,通过测定不同 NaCl 浓度梯度处理下大豆萌芽期表型和氧化酶活性指标,明确耐盐性与各指标的相关性,以期为大豆种植初期耐盐品种选择和选育提供参考指标,建立快捷、稳定的大豆耐盐性鉴定指标体系。

1 材料与方法

1.1 材料

选用近年来 9 个山东省主推大豆品种为试验材料,分别为:临豆 10 号,临豆 11,菏豆 12 号,菏豆 28 号,

齐黄 34,周豆 25 号,潍豆 8 号,潍豆 9 号,潍豆 10 号。

1.2 试验设计

试验采用不同 NaCl 浓度处理,设 CK (蒸馏水)、T1 (0.5% NaCl)、T2 (1% NaCl)、T3 (1.5% NaCl)4 个水平,其中 T1 接近山东滨海盐渍土壤含盐量(土壤含盐量 0.3% ~ 0.5%),T2、T3 为高盐胁迫处理。9 个大豆品种分别挑选籽粒饱满、发育一致的种子,用 75% 酒精消毒 2 min,再用蒸馏水冲洗 3 遍。在铺有 3 层滤纸的发芽盒中加入 20 mL 对应 NaCl 溶液,使滤纸吸收饱和并稍有溢出,均匀摆放 100 粒种子并盖上两层对应溶液浸湿的滤纸,盖上发芽盒,置于 25 ± 1 ℃,光照周期 12 h/12 h(光照/黑暗)培养箱中培养。每 24 h 用对应溶液冲洗种子并更换滤纸,以保持 NaCl 溶液浓度基本不变和良好的通气状况。每个处理 3 次重复。培养 7 d 后,用直尺测量胚根长度,确定须根数。各品种每个处理随机取样 10 株,计算发芽率和相对盐害指数。3 次重复取其平均数。整株鲜样液氮速冻后存于 -80 ℃冰箱中,用于测定 SOD、POD、CAT 活性。最终分析大豆萌芽期不同盐浓度处理条件下相对盐害指数与表型、抗氧化酶活性指标的相关性。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 表型指标的测定 计算发芽率和相对盐害指数,发芽率(%) = 7 d 发芽种子数/供试种子数 × 100,相对盐害指数(%) = (对照发芽率 - 处理发芽率)/对照发芽率 × 100。参照《大豆种质资源描述规范和数据标准》^[16],根据不同品种萌芽期相对盐害指数划分耐盐性级别(表 1)。盐害指数值越小则表明其耐盐性越强,耐盐等级评价也越高。

表 1 大豆耐盐性分级标准

Table 1 Salt tolerance grading standard for soybean		
级别	耐盐性	盐害指数
Grade	Salt resistance	Salt injury index/%
1	高耐 HR	0 ~ 20.0
2	较耐 R	20.1 ~ 40.0
3	中耐 MR	40.1 ~ 60.0
4	较敏感 S	60.1 ~ 80.0
5	敏感 HS	80.1 ~ 100.0

1.3.2 抗氧化酶活性的测定 参照李合生^[21]的方法获得酶提取液,3 种酶活性的测定分别参考氮蓝四唑光还原法^[21]、陈建勋等^[22]方法和紫外分光光度法^[23],测定大豆幼苗鲜重每 1 g 的相对酶活。

1.4 数据分析

采用 SPSS 18.0 分析软件对有关数据进行统计和相关性分析;采用 Excel 2003 软件作表。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期表型指标的影响

2.1.1 发芽率 不同处理间,发芽率随着 NaCl 浓度提升而降低,各处理间差异均达到显著水平。品种间在不同 NaCl 处理条件下发芽率变化规律存在差异。T1 条件下,周豆 25 号发芽率最高,比最低的潍豆 8 号提高 24.97%;T2、T3 条件下,荷豆 28 号发芽率表现出优势,达到最高值,比最低潍豆 8 号分别提高 55.05%、55.15%(表 2)。表明盐胁迫显著抑制大豆的发芽率,高浓度盐处理(1% NaCl)对发芽率的胁迫更明显。

2.1.2 相对盐害指数 由表 3 可知:不同 NaCl 浓度下,各品种相对盐害指数存在差异。T1 条件下,9 个品种均表现为高耐,耐盐性表现为:荷豆 12 号>荷豆 28 号>周豆 25 号>临豆 11>齐黄 34>潍豆 9 号>潍豆 8 号>临豆 10 号>潍豆 10 号。T2 条件下,荷豆 28 号、齐黄 34 表现为高耐,潍豆 8 号表现为较敏感,其它品种均表现为较耐,耐盐性表现为:荷豆 28 号>齐黄 34>临豆 10 号>临豆 11>周豆 25 号>荷豆 12 号>潍豆 9 号>潍豆 10 号>潍豆 8 号。T3 条件下,荷豆 28 号、齐黄 34、临豆 10 号表现为较耐,临豆 11、荷豆 12 号、周豆 25、潍豆 9 号表现为中耐,潍豆 10 号和潍豆 8 号表现为较敏感,耐盐性表现与 T3 条件下相同。相对盐害指数反映了不同品种对盐胁迫的耐受能力,不同盐浓度下品种间的耐盐程度有不同的体现。

表 2 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期发芽率的影响
Table 2 Effect of different concentrations of NaCl stress on germination rate of soybean in germination stage

品种 Variety	发芽率 Germination rate/%			
	CK	T1	T2	T3
临豆 10 号 Lindou 10	86.67 a	75.06 b	68.36 c	53.35 d
荷豆 28 号 Hedou 28	91.67 a	90.07 b	78.36 c	71.76 d
临豆 11 Lindou 11	81.67 a	78.37 b	63.35 c	48.34 d
荷豆 12 号 Hedou 12	81.67 a	81.47 b	58.35 c	40.03 d
齐黄 34 Qihuang 34	90.00 a	85.00 b	75.00 c	56.67 d
周豆 25 号 Zhoudou 25	95.00 a	93.30 b	71.60 c	53.30 d
潍豆 9 号 Weidou 9	90.00 a	85.00 b	60.00 c	40.00 d
潍豆 8 号 Weidou 8	78.33 a	68.33 b	23.31 c	16.61 d
潍豆 10 号 Weidou 10	88.33 a	75.03 b	53.32 c	31.71 d
平均 Mean	87.04	81.29	61.29	45.75

同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。
Different lowercase in the same column indicated significant differences at 0.05 level. The same below.

表 3 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期相对盐害指数的影响
Table 3 Effect of different concentrations of NaCl stress on relative salt injury index of soybean in germination stage

品种 Variety	T1		T2		T3	
	相对盐害指数 Relative salt damage index/%	耐盐等级 Grade of salt tolerance	相对盐害指数 Relative salt damage index/%	耐盐等级 Grade of salt tolerance	相对盐害指数 Relative salt damage index/%	耐盐等级 Grade of salt tolerance
临豆 10 号 Lindou 10	13.39	1	21.13	2	38.45	2
荷豆 28 号 Hedou 28	1.75	1	14.52	1	21.72	2
临豆 11 Lindou 11	4.04	1	22.43	2	40.81	3
荷豆 12 号 Hedou 12	0.25	1	28.55	2	50.98	3
齐黄 34 Qihuang 34	5.56	1	16.67	1	37.03	2
周豆 25 号 Zhoudou 25	1.79	1	24.63	2	43.90	3

续表 3

品种 Variety	T1		T2		T3	
	相对盐害指数	耐盐等级	相对盐害指数	耐盐等级	相对盐害指数	耐盐等级
	Relative salt damage index/%	Grade of salt tolerance	Relative salt damage index/%	Grade of salt tolerance	Relative salt damage index/%	Grade of salt tolerance
潍豆 9 号 Weidou 9	5. 56	1	33. 33	2	55. 56	3
潍豆 8 号 Weidou 8	12. 77	1	70. 24	4	78. 80	4
潍豆 10 号 Weidou 10	15. 06	1	39. 64	2	64. 10	4

2. 1. 3 胚根长 胚根长随着 NaCl 浓度增加而呈逐渐减小趋势。各处理间胚根长的差异均达到显著水平,只有潍豆 9 号在 T1 和 T2 处理下差异不显著。品种间,荷豆 28 的胚根长在 3 个盐处理间都处于最高水平,T1 处理下比最低的潍豆 9 号高 2. 7% ,T2、T3 处理下比最低的潍豆 8 号分别高出 1. 2% 和 0. 5% (表 4)。研究表明盐胁迫显著影响大豆胚根的生长,盐浓度越高,胁迫影响越大。

表 4 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期相对胚根长的影响
Table 4 Effect of different concentrations of NaCl stress on relative radicle length of soybean in germination stage

品种 Variety	相对胚根长 Relative radicle length /cm			
	CK	T1	T2	T3
临豆 10 号 Lindou 10	7. 50 a	3. 10 b	1. 10 c	0. 40 d
荷豆 28 号 Hedou 28	7. 40 a	3. 50 b	1. 50 c	0. 60 d
临豆 11 Lindou 11	7. 60 a	2. 80 b	1. 10 c	0. 20 d
荷豆 12 号 Hedou 12	7. 50 a	1. 80 b	0. 90 c	0. 20 d
齐黄 34 Qihuang 34	7. 20 a	3. 30 b	1. 20 c	0. 50 d
周豆 25 号 Zhoudou 25	7. 30 a	2. 30 b	1. 00 c	0. 30 d
潍豆 9 号 Weidou 9	6. 10 a	0. 80 b	0. 80 b	0. 10 c
潍豆 8 号 Weidou 8	5. 10 a	1. 20 b	0. 30 c	0. 10 d
潍豆 10 号 Weidou 10	6. 20 a	1. 30 b	0. 80 c	0. 10 d
平均 Mean	6. 88	2. 23	0. 97	0. 28

2. 1. 4 须根数 由表 5 可知:须根数随着 NaCl 浓度增加而减少,且 CK 与各处理间差异均达显著水平。与 T1 处理相比,T2 和 T3 处理下的平均须根数

分别下降 2. 59% 和 3. 85% ,其中临豆 10 号、荷豆 28 号、临豆 11、荷豆 12 号和齐黄 34 与 T1 处理呈显著差异;T3 处理下只有荷豆 28 号和临豆 11 与 T2 处理下差异显著。品种间,荷豆 28 号在 3 个处理下须根数都最多,分别比最低的潍豆 8 号高出 7. 67%、2. 33% 和 0. 33%。T3 处理下,临豆 11、荷豆 12 号、周豆 25 号、潍豆 9 号、潍豆 10 号、潍豆 8 号的须根数降为 0。结果表明大豆须根的生长明显受到盐胁迫的抑制,高盐胁迫 (1% NaCl) 下须根生长严重受到抑制。

表 5 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期相对须根数的影响
Table 5 Effect of different concentrations of NaCl stress on relative number of fibrous roots of soybean in germination stage

品种 Variety	相对须根数 Relative number of fibrous roots			
	CK	T1	T2	T3
临豆 10 号 Lindou 10	22. 67 a	4. 67 b	1. 67 c	0. 33 c
荷豆 28 号 Hedou 28	25. 00 a	8. 00 b	2. 33 c	0. 33 d
临豆 11 Lindou 11	19. 00 a	3. 67 b	1. 33 c	0 d
荷豆 12 号 Hedou 12	17. 33 a	3. 67 b	1. 33 bc	0 c
齐黄 34 Qihuang 34	23. 00 a	5. 67 b	1. 67 c	0. 33 c
周豆 25 号 Zhoudou 25	22. 67 a	3. 67 b	1. 33 b	0 b
潍豆 9 号 Weidou 9	20. 67 a	3. 33 b	1. 33 b	0 b
潍豆 8 号 Weidou 8	17. 00 a	0. 33 b	0 b	0 b
潍豆 10 号 Weidou 10	19. 33 a	2. 67 b	1. 33 b	0 b
平均 Mean	20. 74	3. 96	1. 37	0. 11

2.2 不同浓度 NaCl 胁迫大豆萌芽期抗氧化酶活性的影响

2.2.1 SOD 活性 盐胁迫条件下大豆 SOD 活性随着盐浓度的不断升高呈降低趋势,且 9 个品种的 SOD 活性在各处理间均达到显著差异水平。品种间,周豆 25 号在 T1 处理下 SOD 活性最高,比最低的潍豆 8 号高 15.75%;T2 和 T3 处理下荷豆 28 号表现优势,SOD 活性达到最高,比最低的潍豆 8 号分别提高 39.03% 和 39.95%。SOD 活性受盐胁迫抑制,且在 3 个浓度盐处理间受到的抑制都达到显著差异水平,与表型指标胚根长在不同盐浓度处理下的表现一致(表 6)。说明 SOD 活性能够表征各品种在不同浓度 NaCl 胁迫下的抗盐能力。SOD 活性在 3 个浓度 NaCl 胁迫下都比 CK 表现出显著差异,可作为大豆萌芽期耐盐鉴定的重要指标。

表 6 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期相对 SOD 活性的影响

Table 6 Effects of different concentrations of NaCl stress on relative SOD activity of soybean in germination stage

品种 Variety	SOD 活性 SOD activity/(U·g ⁻¹)			
	CK	T1	T2	T3
临豆 10 号 Lindou 10	172.76 a	102.76 b	63.16 c	38.10 d
荷豆 28 号 Hedou 28	170.05 a	103.64 b	66.82 c	48.48 d
临豆 11 Lindou 11	170.83 a	104.88 b	59.66 c	20.58 d
荷豆 12 号 Hedou 12	170.56 a	102.15 b	54.14 c	19.15 d
齐黄 34 Qihuang 34	170.86 a	102.86 b	62.56 c	40.43 d
周豆 25 号 Zhoudou 25	171.97 a	105.10 b	60.81 c	22.27 d
潍豆 9 号 Weidou 9	169.88 a	95.80 b	33.86 c	19.02 d
潍豆 8 号 Weidou 8	170.65 a	89.35 b	27.79 c	8.53 d
潍豆 10 号 Weidou 10	171.10 a	95.18 b	30.34 c	17.48 d
平均 Mean	170.96	100.19	51.02	26.00

2.2.2 CAT 活性 由表 7 可知,盐胁迫条件下,大豆 CAT 活性随盐浓度的升高呈逐渐下降的趋势,且 CK、T1 处理分别与其它各处理间均呈显著差异。品种间,荷豆 28 号的 CAT 活性在 3 个盐处理间均为最高,分别比最低的潍豆 8 号提高了 12.1%、

21.99% 和 39.77%。

盐胁迫抑制了大豆 CAT 活性,荷豆 28 号在盐胁迫下表现出较高水平的 CAT 活性,潍豆 8 号的 CAT 活性受 NaCl 胁迫最严重。与表型指标须根数在不同盐浓度处理下的生长状况表现一致,说明 CAT 活性能够表征各品种在不同浓度 NaCl 胁迫下的抗盐能力。荷豆 28 号、齐黄 34、临豆 10 号的 CAT 活性在 T2、T3 处理下无显著差异,与表型指标须根数在高盐浓度(1.5% NaCl)下表现出高耐盐性保持一致。CAT 活性在高盐浓度(1% NaCl)胁迫下可作为大豆萌芽期耐盐性评价的重要指标。

表 7 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期相对 CAT 活性的影响

Table 7 Effects of different concentrations of NaCl stress on relative CAT activity of soybean in germination stage

品种 Variety	CAT 活性 CAT activity/(U·g ⁻¹)			
	CK	T1	T2	T3
临豆 10 号 Lindou 10	178.00 a	109.80 b	89.01 c	66.57 c
荷豆 28 号 Hedou 28	178.10 a	114.50 b	92.12 c	69.54 c
临豆 11 Lindou 11	188.00 a	113.20 b	86.29 c	43.58 d
荷豆 12 号 Hedou 12	175.50 a	108.40 b	87.83 c	39.21 d
齐黄 34 Qihuang 34	180.90 a	108.60 b	91.74 c	65.89 c
周豆 25 号 Zhoudou 25	179.00 a	107.90 b	86.37 c	53.58 d
潍豆 9 号 Weidou 9	190.10 a	103.40 b	85.76 c	36.89 d
潍豆 8 号 Weidou 8	181.10 a	102.40 b	70.13 c	29.77 d
潍豆 10 号 Weidou 10	191.70 a	105.40 b	72.79 c	36.73 d
平均 Mean	182.49	108.18	76.89	49.08

2.2.3 POD 活性 由表 8 可知,大豆品种 POD 活性随着盐浓度的不断升高呈逐渐降低趋势,且 CK、T1 分别与其它各处理间差异显著。T3 处理下,POD 活性比 T2 处理降低了 36.04%,但差异不显著。品种间,潍豆 8 号的 POD 活性在 3 个盐处理下均为最低;T1 处理下齐黄 34 的 POD 活性最高,比潍豆 8 号提高 54.05%;T2、T3 处理下荷豆 28 号的 POD 活性最高,比潍豆 8 号分别提高 42.75%、25.31%。大豆 POD 活性受到盐胁迫的抑制,荷豆 28 号和齐黄

34 在不同盐浓度下均保持较高的 POD 活性,而潍豆 8 号的 POD 活性在盐胁迫下受到严重抑制,与表型指标发芽率在不同盐浓度处理下的表现一致,说明 POD 活性能够表征各品种在不同浓度 NaCl 胁迫下的抗盐能力。9 个品种的 POD 活性在 T2、T3 处理下无显著差异,与品种间相对盐害指数在 T2、T3 处理下表现出相同的耐盐程度保持一致(表 8)。POD 活性在高盐浓度(1% NaCl)胁迫下可作为大豆萌芽期耐盐性评价的关键指标。

2.3 大豆萌芽期耐盐性与各指标的相关性分析

由表 9 可知:相对胚根长、相对须根数及相对 SOD 活性、相对 CAT 活性、相对 POD 活性均呈负相关关系,但显著性因盐胁迫浓度差异而不尽相同。T1 处理条件下,仅相对 SOD 活性与相对盐害指数呈显著负相关;T2、T3 处理条件下,各指标与相对盐害指数均呈显著负相关关系,且相对胚根长、相对 SOD 活性、相对 CAT 活性与相对盐害指数间达极显著负相关关系。

盐胁迫抑制大豆的表型和抗氧化酶活性指标,高盐浓度(1% NaCl)对各指标有显著抑制作用。SOD 活性在 3 个盐浓度下均与相对盐害指数达到显著负相关关系,说明 SOD 活性可表征不同浓度 NaCl 胁迫下大豆萌芽期的耐盐能力。其它指标在 T2、T3 处理下与相对盐害指数达到显著负相关关系,可作为高盐浓度(1% NaCl)下大豆萌芽期耐盐鉴定的关键指标(表 9)。

表 8 不同浓度 NaCl 胁迫对大豆萌芽期相对 POD 活性的影响

Table 8 Effects of different concentrations of NaCl stress on relative POD activity of soybean in germination stage

品种 Variety	POD 活性 POD activity/(U·g ⁻¹)			
	CK	T1	T2	T3
临豆 10 号 Lindou 10	569.88 a	171.81 b	85.83 c	41.46 c
荷豆 28 号 Hedou 28	591.42 a	195.03 b	100.25 c	49.26 c
临豆 11 Lindou 11	576.04 a	180.91 b	68.05 c	40.55 c
荷豆 12 号 Hedou 12	585.72 a	174.03 b	60.89 c	33.15 c
齐黄 34 Qihuang 34	574.53 a	203.61 b	89.53 c	43.76 c
周豆 25 号 Zhoudou 25	564.24 a	181.12 b	76.14 c	40.92 c
潍豆 9 号 Weidou 9	591.08 a	167.55 b	61.35 c	31.78 c
潍豆 8 号 Weidou 8	568.69 a	149.56 b	57.50 c	23.95 c
潍豆 10 号 Weidou 10	580.64 a	159.67 b	58.45 c	28.84 c
平均 Mean	578.03	175.92	73.11	37.07

表 9 相对盐害指数与各指标的相关性分析

Table 9 Correlation analysis of relative salt injury index with various indicators

		相关系数 Correlation coefficient				
盐浓度 Salt concentration		相对胚根长 Relative radicle length	相对须根数 Relative number of fibrous roots	SOD 活性 SOD activity	CAT 活性 CAT activity	POD 活性 POD activity
相对耐盐指数 Relative salt injury index	T1	-0.21	-0.54	-0.69 *	-0.53	-0.57
	T2	-0.92 **	-0.90 **	-0.86 **	-0.83 **	-0.70 *
	T3	-0.84 **	-0.70 *	-0.89 **	-0.87 **	-0.97 **

* 表示在 $P < 0.05$ 水平显著相关; ** 表示在 $P < 0.01$ 水平极显著相关。
* indicated significant correlation at $P < 0.05$ level; ** indicated extremely significant correlation at $P < 0.01$ level.

3 讨 论

大豆耐盐性早期鉴定研究可缩短鉴定周期,简便快捷,对大样品的耐盐性品种筛选具有重要意义^[24]。Mahlooji 等^[25-27]研究表明,盐胁迫限制植株生长速度。刘太林等^[28]测定了 10 份大豆品种萌芽期在不同盐浓度处理下的发芽率、胚根长等生理指标,结果表明在低盐浓度下盐胁迫抑制不明显,高盐浓度盐胁迫显著抑制大豆种子萌发。阚贵珍等^[29]对 113 份野生大豆进行芽期耐盐性鉴定表明,

发芽指数、发芽率等种子萌发性状在盐溶液处理和对照之间存在极显著差异。张军起等^[30]对 13 份大豆萌芽期耐盐性评价鉴定结果表明,大豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数等指标在盐胁迫环境中明显下降。
本研究通过对大豆萌芽期耐盐性表型指标鉴定结果表明,T1 浓度 NaCl 胁迫对大豆的发芽率影响不大,但随着盐浓度不断升高,T2、T3 处理发芽率呈现急剧下降趋势。说明,高于 0.5% NaCl 胁迫条件可显著降低大豆发芽率。胚根长和须根数表现

更为敏感,T1、T2、T3 处理下均比 CK 降低且呈显著差异。品种耐盐性分级,与盐胁迫浓度相关。低浓度 T1 条件下,9 个品种均为高耐品种;高浓度 T2、T3 条件下,品种荷豆 28 号、齐黄 34、临豆 10 号、临豆 11 号为耐盐品种;不同盐浓度条件下,潍豆 8 号耐盐性最低。因此,评价不同品种的耐盐性,必须要在特定盐胁迫浓度范围内进行,才可更科学的对品种耐盐性级别进行分级。

目前对于大豆萌芽期的耐盐性,国内外学者采用了多种不同的方法进行评价。邵桂花等^[31]在田间利用盐害指数法筛选耐盐品种,田间鉴定方便快捷,适用于大批量品种的鉴定。但大田操作易受多种因素的影响,如盐分漫灌不均匀,光照、气温、降水等自然条件也难以掌控,可重复性较差。牛远等^[8]的研究确定了主根长和下胚轴长可作为大豆萌芽期耐盐鉴定指标,曹帅等^[10]确定了主根长作为大豆萌芽期耐盐鉴定的重要指标。对于大豆耐盐鉴定的研究多集中在表型生理指标上,且鉴定指标较少。植物在逆境作用下本身形成一些防御机制,如活性氧的酶促清除系统,包括 SOD、POD、CAT 等,抗氧化酶活性在植物抗逆方面也起到很重要的作用^[32-35]。本试验不仅探究大豆表型指标与大豆耐盐性的关系,还探究了抗氧化酶活性指标在大豆耐盐鉴定中的表现。本研究对不同大豆品种进行多个盐浓度处理,测定 SOD、POD 和 CAT 的活性变化的结果表明,随着盐浓度的不断升高,酶活性呈下降趋势,且与对照抗氧化酶活性差异显著。荷豆 28 号、齐黄 34、周豆 25 号在盐胁迫条件下,抗氧化酶含量较高,潍豆 8 号含量最低。不同盐胁迫条件下,表型、抗氧化酶活性指标与大豆品种耐盐性存在负相关关系,但显著水平存在差异。低 NaCl 浓度条件,相对 SOD 活性与盐害指数显著负相关;高浓度条件下,相对胚根长、相对须根数及相对 SOD 活性、相对 CAT 活性、相对 POD 活性均与盐害指数呈显著负相关关系。因此,SOD 活性是大豆萌芽期耐盐性鉴定评价的重要指标。在高浓度下(1% NaCl),胚根长、须根数、SOD 活性、CAT 活性、POD 活性等指标均可作为大豆耐盐性评价的关键指标。本鉴定结果结合抗氧化酶活性指标和表型生理指标,有利于更新优化大豆萌芽期耐盐鉴定方法,对于大豆品种耐盐性鉴定评价和筛选耐盐种质等工作具有一定参考意义,筛选结果为大豆种质资源的耐盐性鉴定评价提供指标选择和数据支撑。

4 结 论

本研究选用的 9 个大豆品种,表型和抗氧化酶活性指标都与盐胁迫呈负相关关系,在不同盐浓度下呈现不同的显著水平。筛选出耐盐品种荷豆 28

号、齐黄 34,盐敏感品种潍豆 8 号。SOD 活性可作为大豆萌芽期耐盐性鉴定评价的重要指标,胚根长、须根数及 CAT、POD 活性可作为高浓度盐胁迫(1% NaCl)下大豆耐盐性评价的关键指标。

参考文献

[1] Zhang J P, Song Q J, Cregan P B, et al. Genome-wide association study for flowering time, maturity dates and plant height in early maturing soybean (*Glycine max*) germplasm[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 217.

[2] Alerding A B, Irvine M C, Cunicelli M J, et al. Image analysis and histochemistry to identify mobile stem resources for seed production in soybean[J]. Journal of Crop Improvement, 2018, 32(5): 738-756.

[3] Chen H T, Ye H, Do T H, et al. Advances in genetics and breeding of salt tolerance in soybean[J]. Salinity Responses and Tolerance in Plants, 2018, 2: 217-237.

[4] Jia T J, An J, Liu Z, et al. Salt stress induced soybean *GmIFS1* expression and isoflavone accumulation and salt tolerance in transgenic soybean cotyledon hairy roots and tobacco[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2017, 128(2): 469-477.

[5] Do T H, Vuong T D, Dunn D, et al. Mapping and confirmation of loci for salt tolerance in a novel soybean germplasm, Fiskeby III [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2018, 131(3): 513-524.

[6] Lee G J, Boerma H R, Villagarcia M R, et al. A major QTL conditioning salt tolerance in S-100 soybean and descendent cultivars [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2004, 109(8): 1610-1619.

[7] 徐长兵,牛凤娟,孙现军,等. 盐胁迫下大豆转录因子 GmT-FHIC 功能研究[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20: 1-10. (Xu C B, Niu F J, Sun X J, et al. Functional characterization of GmT-FHIC in response to salt stress[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20: 1-10.)

[8] 牛远,杨修艳,戴存凤,等. 大豆芽期和苗期耐盐性评价指标筛选[J]. 大豆科学, 2018, 37(2): 215-223. (Niu Y, Yang X Y, Dai C F, et al. Related indices selection of soybean salt tolerance at germination and seedling stages[J]. Soybean Science, 2018, 37(2): 215-223.)

[9] 姜奇彦,胡正,张辉,等. 大豆种质资源耐盐性鉴定与研究[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(5): 726-732. (Jiang Q Y, Hu Z, Zhang H, et al. Evaluation for salt tolerance in soybean cultivars (*Glycine max* L. Merrill) [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(5): 726-732.)

[10] 曹帅,杜仲阳,向殿军,等. 18 份大豆品种耐盐碱性筛选与综合鉴定[J]. 大豆科学,2019,38(3): 344-352. (Cao S, Du Z Y, Xiang D J, et al. Salt and alkaline tolerance screening and comprehensive identification of eighteen soybean varieties [J]. Soybean Science, 2019, 38(3): 344-352.)

[11] Jorge T F, Tohge T, Wendenburg R, et al. Salt-stress secondary metabolite signatures involved in the ability of *Casuarina glauca* to mitigate oxidative stress[J]. Environmental and Experimental Botany, 2019, 166: 87-95.

[12] Kapoor D, Singh S, Kumar V, et al. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) [J]. Plant Gene, 2019, 19: 101-112.

- [13] 杨晓英, 章文华, 王庆亚, 等. 江苏野生大豆的耐盐性和离子在体内的分布及选择性运输[J]. 应用生态学报, 2003, 14(12): 2237-2240. (Yang X Y, Zhang W H, Wang Q Y, et al. Salt tolerance of wild soybeans in Jiangsu and its relation with ionic distribution and selective transportation[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(12): 2237-2240.)
- [14] 高伟, 陆静梅, 牛陆, 等. NaCl 胁迫下不同抗性野生大豆体内 Na^+ , K^+ , Cl^- 浓度比较分析[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2015, 47(1): 124-128. (Gao W, Lu J M, Niu L, et al. Comparative analysis of Na^+ , K^+ and Cl^- concentrations in different resistant wild soybeans under nacl stress[J]. Journal of Northeast Normal University(Natural Science Edition), 2015, 47(1): 124-128.)
- [15] 盖玉红, 牛陆, 董宝池, 等. 不同浓度盐、碱胁迫对野生大豆光合特性和生理生化特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 89-93. (Gai Y H, Niu L, Dong B C, et al. Effects of salt and alkali stress on photosynthetic characteristics and biochemical characteristics of wild soybean[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2014, 42(5): 89-93.)
- [16] Tarchoun I, Sgherri C, Izzo R, et al. Antioxidative responses of *Ocimum basilicum* to sodium chloride or sodium sulphate salinization[J]. Plant Physiology And Biochemistry, 2010, 48(1): 772-777.
- [17] Dionisio-Sese M L, Tobita S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress[J]. Plant Science, 1998, 135(1): 1-9.
- [18] 李超汉, 杨红娟, 高亚达, 等. 菜用大豆耐盐品种资源鉴定及其耐盐生理机理研究[J]. 上海农业学报, 2018, 34(3): 21-27. (Li C H, Yang H J, Gao Y D, et al. Assessment and screening of salt-tolerance cultivars of vegetable soybean and the salt-tolerance physiological mechanism study[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2018, 34(3): 21-27.)
- [19] 杨艳丽, 李大红, 李鸿雁. 过表达桃 *PpCuZnSOD* 基因提高大豆耐盐性研究[J]. 大豆科学, 2018, 37(4): 525-530. (Yang Y L, Li D H, Li H Y. Overexpression of *PpCuZnSOD* gene improves salt tolerance in transgenic soybean[J]. Soybean Science, 2018, 37(4): 525-530.)
- [20] 肖朝霞. 盐碱胁迫对大豆种子萌发及抗氧化性的影响[J]. 甘肃农业科技, 2011(1): 31-33. (Xiao Z X. Effect of the saline-alkali stress on germination and antioxidant of soybean seed[J]. Gansu Agricultural Science And Technology, 2011(1): 31-33.)
- [21] 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: 258-261. (Li H S. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 258-261.)
- [22] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南科技大学出版社, 2002: 120-121. (Chen J X, Wang X F. Plant physiology experiment guide[M]. Guangzhou: South China University of Science and Technology Press, 2002: 120-121.)
- [23] 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 衰老叶片和叶绿体中 H_2O_2 的累积与膜脂过氧化的关系[J]. 植物生理学报, 1988, 14(1): 16-22. (Lin Z F, Li S S, Lin G Z, et al. Relationship between accumulation of H_2O_2 and membrane lipid peroxidation in senescent leaves and chloroplasts[J]. Acta Phytophysiological Sinica, 1988, 14(1): 16-22.)
- [24] 张鹏, 徐晨, 徐克章, 等. 大豆品种耐盐性的快速鉴定法及不同时期耐盐性的研究[J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(5): 572-578. (Zhang P, Xu C, Xu K Z, et al. Fast identification method of salt-tolerance and research on salt-tolerance at different stages of soybean cultivars[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2013, 35(5): 572-578.)
- [25] Mahlooji M, Sharifi R S, Razmjoo J, et al. Effect of salt stress on photosynthesis and physiological parameters of three contrasting barley genotypes[J]. Photosynthetica, 2018, 56(2): 549-556.
- [26] Moradi F, Ismail A M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and Ros-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice[J]. Annals of Botany, 2007, 99(6): 1161-1173.
- [27] Takemura T, Hanagata N, Sugihara K, et al. Physiological and biochemical responses to salt stress in the man-grove, *Bruguiera gymnorrhiza*[J]. Aquatic Botany, 2000, 68(1): 1-28.
- [28] 刘太林, 杨静慧, 穆俊丽, 等. 不同大豆品种种子萌芽期的耐盐性[J]. 大豆科学, 2009, 28(5): 837-841. (Liu T L, Yang J H, Mu J L, et al. Salt tolerance selection of ten soybeans in germination period[J]. Soybean Science, 2009, 28(5): 837-841.)
- [29] 阚贵珍, 张威, 李亚凯, 等. 野生大豆芽期耐盐性状的关联分析[J]. 大豆科学, 2017, 36(5): 737-745. (Kan G Z, Zhang W, Li Y K, et al. Association mapping of wild soybean (*Glycine soja*) seed germination under salt stress[J]. Soybean Science, 2017, 36(5): 737-745.)
- [30] 张军起, 赵霞, 张豪, 等. 不同大豆种子萌发期耐盐性分析[J]. 山西农业科学, 2019, 47(5): 770-774, 779. (Zhang J Q, Zhao X, Zhang H, et al. Analysis of salt tolerance of different soybean seeds at germination stage[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2019, 47(5): 770-774, 779.)
- [31] 邵桂花, 宋景芝, 刘惠令. 大豆种质资源耐盐性鉴定初报[J]. 中国农业科学, 1986, 19(6): 30-35. (Shao G H, Song J Z, Liu H L. Preliminary studies on the evaluation of salt tolerance in soybean varieties[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1986, 19(6): 30-35.)
- [32] 喻敏, 陈跃进, 萧洪东, 等. 硼钼对低温下草坪草海滨雀稗活性氧代谢的影响[J]. 作物学报, 2005, 31(6): 755-759. (Yu M, Chen Y J, Xiao H D, et al. Influences of boron and molybdenum on active oxygen species in turfgrass seashore paspalum under low temperature[J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(6): 755-759.)
- [33] 王丽燕. NaCl 处理对野大豆生理生化特性的影响[J]. 大豆科学, 2008, 7(6): 1067-1071. (Wang L Y. Effects of NaCl stress on physiological and biochemical characters of *Glycine soja*[J]. Soybean Science, 2008, 7(6): 1067-1071.)
- [34] 刘浩然. 不同大豆品种对于干旱和盐胁迫的生理响应机制[D]. 保定: 河北大学, 2018: 20-28. (Liu H R. Physiological response mechanism of different soybean varieties resistant to drought and salt stress[D]. Baoding: Hebei University, 2018: 20-28.)
- [35] 何庆元, 向仕华, 吴萍, 等. 盐胁迫对大豆 POD、SOD 和 CAT 同工酶的影响[J]. 安徽科技学院学报, 2015, 29(3): 10-13. (He Q Y, Xiang S H, Wu P, et al. Effects of salt stress in soybean (*Glycine max*) isoenzyme of POD, SOD and CAT[J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 2015, 29(3): 10-13.)