

连作对大豆生理生化特性的影响*

赵淑英 赵九洲 陈洁敏 杨方人

(黑龙江八一农垦大学, 密山市, 158308)

摘 要

本文探讨了连作对大豆的生理生化及产量的影响。试验结果表明, 连作导致大豆生长发育受阻, 在生理上表现净光合生产率(NAR)、群体生长率(CGR)降低; 连作胁迫使叶片光合色素($Chla$ 、 $Chlb$ 、 $Chla/b$ 以及类胡萝卜素)含量减少; 超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性降低; 组织外渗电导率提高; 膜质过氧化作用增强, 丙二醛(MDA)和脯氨酸含量(%)增加。

关键词 大豆; 连作胁迫; 生理生化指标

前 言

连作是黑龙江省大豆生产中普遍存在的问题。大豆连作导致土壤养分偏耗, 土壤理化特性恶化, 根系分泌毒素积累, 土壤微生物群系改变, 造成大豆孢囊线虫、根腐病等病虫害加重, 籽粒产量下降^[3], 品质降低。大豆连作减产是上述诸多因素综合作用的结果。我们姑且将其称作“连作胁迫”。本研究旨在从生理生化反应的角度探讨大豆连作胁迫减产的原因。

材料和方法

本试验于1991—1993年于黑龙江八一农垦大学大豆连作圃内进行, 土壤类型为白浆土。前茬小麦, 设轮作正茬、连作2年(麦—豆—豆)、连作3年(豆—豆—豆)3个处理。试验采用对比设计, 小区面积为 $18m^2$, 4次重复。供试品种为合丰25号, 采用机械精密点播, 施肥及生育期间的田间管理与一般大田相同。测产面积 $4m^2$ 。收获前在田间连续取20株

* 本研究得到了贾新民、郑桂萍、孙长艳、李国兰等同志的大力协助, 谨致谢意!

本文于1994年10月24日收到。

This paper was received on Oct. 24, 1994.

进行室内考种。

测定项目和方法如下:

1. 生长分析

大豆出苗后每隔 15 天取样 1 次,用鲜样称重法测叶面积,用烘干称重法测定生物产量,然后换算下列指标:

$$(1) \text{净同化率(NAR)} = \frac{\text{Ln}L_2 - \text{Ln}L_1}{L_2 - L_1} \cdot \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1}$$

(L_1 、 L_2 分别为 t_1 、 t_2 时间的叶面积, W_1 、 W_2 为 t_1 和 t_2 时间的干物重,下同)

$$(2) \text{相对生长率(RGR)} = \frac{\text{Ln}W_2 - \text{Ln}W_1}{t_2 - t_1}$$

$$(3) \text{群体生长率(CGR)} = \text{NAR} \cdot \text{LAI}$$

(LAI 为群体的叶面积指数)

2. 测试技术

(1)组织外渗液相对电导率测定:采用张宪政(1989)的方法,用上海产 DD-6200 数字式电导率仪测定。

(2)光合色素含量:采用乙醇:丙酮(1:1)混合液浸提法,按波钦诺克的方法测定叶绿素含量及类胡萝卜素含量

(3)超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量:称取 0.5g 试样,置于冰浴中的研钵内,加入适量 0.05M 磷酸钠缓冲液(pH7.8),慢速研磨,定容至 5ml 刻度试管中,12000rpm 低温离心 20 分钟,上清液供测定 SOD 和 MDA。

SOD 活性测定:按 Giannopolitis 和 Ries(1977)的 NBT(氯化硝基四氮唑蓝)光化还原法。

MDA 含量:酶液加入 2.5ml 5% 硫代巴妥的 5% 三氯乙酸溶液,于沸水浴中加热 10 分钟,迅速冷却,于 3000rpm 下离心,上清液于 534nm 和 600nm 波长下测光密度值。

(4)过氧化氢酶活性:按张宪政(1989)碘量法测定。

(5)游离脯氨酸含量:按徐同(1983)的方法测定。

结果与分析

一、连作胁迫对大豆生长发育的影响

1. 连作对大豆生长速率的影响

大豆在连作胁迫条件下,生长发育受阻,生长速率迟缓,我们对连作条件下的大豆的生长速率进行了测定,结果如表 1 所示。

由表 1 资料可以看出,在不同的连作年限条件下,大豆营养体的相对生长率(RGR)均有不同程度的降低,并且有连作年限越长,下降幅度越大的趋势。

在大豆的不同生育时期,单位叶面积、单位时间内的干物质增长量——NAR 也因连作而降低,其中又以 3 年连作降低幅度最大。

从单位土地面积上干物质重——CGR 的增长看,也有随着连作年限的加长而降低的

趋势。

表 1 大豆连作对大豆生长速率的影响
Table 1 Effect of soybean successive cropping system (SSCS) on growth rate of soybean

处理 Treatment	幼苗期 Seedling	差值 ±△%	开花期 Blooming	差值 ±△%	结荚期 Pod-settingting	差值 ±△%	鼓粒期 Pod-filling	差值 ±△%
相对生长率(mg/g·周) Relative growth rate (mg/g·week)								
轮作 CK	118.40	100	78.86	100	46.50	100	3.52	100
连作 2 年 SSCS for 2 years	97.30	-17.82	74.86	-5.07	38.91	-16.32	3.09	-12.22
连作 3 年 SSCS for 3 years	95.47	-19.37	66.87	-11.99	36.58	-21.33	2.45	-30.39
净同化率(mg/cm ² ·日) Net assimilation rate (mg/cm ² .day)								
轮作 CK	0.7846	100	0.7317	100	0.7245	100	0.1398	100
连作 2 年 SSCS for 2 years	0.4384	-44.12	0.6386	-12.72	0.6812	-5.98	0.1182	-15.45
连作 3 年 SSCS for 3 years	0.3904	-50.24	0.5768	-21.17	0.6411	-11.51	0.1046	-25.18
群体生长率(g/m ² ·日) Crop growth rate (g/m ² .day)								
轮作 CK	5.872	100	31.287	100	37.674	100	6.688	100
连作 2 年 SSCS for 2 years	3.998	-31.91	23.564	-24.68	27.316	-27.49	4.689	-29.89
连作 3 年 SSCS for 3 years	3.264	-44.41	16.773	-46.39	20.899	-44.53	3.807	-43.08

2. 连作对大豆开花结荚及产量的影响

从大豆的开花之初,我们定点、定株、挂牌,每隔 2 天调查 1 次开花数量,并且调查了相对应的结荚数和有效荚数(表 2)。

由表 2 可知,连作导致大豆落花落荚加剧,产量下降。连作 2 年和连作 3 年分别比对照产量减少 18.72%和 30.44%。经分析表明,产量差异均达 $t_{0.01}$ 显著水平。

二、连作对大豆叶片光合色素的影响

为了进一步探讨连作大豆生长速率及产量下降与生理生化特性的关系,我们于大豆花荚期测定了叶绿素和类胡萝卜素等光合色素(表 3)。

从表 3 可以看出,在连作胁迫下,大豆叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 及总量(a+b)和类胡

萝卜素含量都比对照低。各项指标的变化趋势是一致的。即其大小顺序为 CK > 连作 2 年 > 连作 3 年。

表 2 大豆连作对大豆开花结荚及产量的影响

Table 2 Effect of soybean successive-cropping (SSC) on the percentage of pod-setting and production

处理 Treatment	花数(个) Flowers number/plant	荚数(个) Pods number/plant	成熟荚(个) Harvest pods number/plant	落花率 Fallen flowers(%)	落荚率 Fallen pods (%)	产量 (kg/亩) yield (kg/mn)
轮作 CK	136	87	39	36.02	55.17	196.8A
连作 2 年 SSC for 2 years	128	72	31	43.75	56.94	160.23
连作 3 年 SSC for 3 years	127	65	24	48.85	63.08	137.1BC

注: (1) 花荚数量为每处理 10 株的平均值

Average observation values of flower and pods number of ten plants in every treatment.

(2) A, B, C 为产量差异显著水平均达 $t_{0.01}$

A, B and C means the yield difference reached $t_{0.01}$ significant level.

表 3 大豆连作对大豆叶片光合色素含量的影响

Table 3 Effect of soybean successive cropping (SSC) on the content of photosynthetic pigment in leaves

处理 Treatment	叶绿素 a Chla mg·g ⁻¹	增减值 ±Δ%	叶绿素 b Chlb mg·g ⁻¹	增减值 ±Δ%	叶绿素(a/b) Chl(a/b)	总量 Total Chl(a+b) mg·g ⁻¹	增减值 ±Δ%	类胡萝卜素 Carotenoid %	增减值 ±Δ%
轮作 CK	0.19	100	2.15	100	8.837/100	2.45	100	5.275	100
连作 2 年 SSC for 2 years	0.14	-26.31	1.68	-21.86	8.333/100	1.83	-25.31	4.215	-20.09
连作 3 年 SSC for 3 years	0.12	-36.81	1.52	-29.30	7.895/100	1.69	-31.02	2.767	-47.55

Chla 和 Chlb 虽然均可作为集光色素接受和传递光能,但只有部分 Chla 才能充当光合反应的中心色素^[4]。从连作胁迫下 Chla/b 比值下降这一结果可知,连作胁迫可能使叶绿素 a 即叶绿体的原初作用部位的反应中心受到伤害。

类胡萝卜素是位于叶绿体膜上的氧自由基的猝灭剂,它同光合作用中心 PS I 和 PS II 连在一起,可保护叶绿素免遭光氧化^[5]。在连作胁迫下,类胡萝卜素含量减少,可能是生长速率下降和叶片颜色变黄的原因之一。

三、连作胁迫对大豆膜质过氧化作用及超氧化物酶的影响

为了解大豆在连作胁迫下的膜伤害情况,我们于大豆开花结荚期测定了超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性以及相对电导率和丙二醛含量。列于表 4。

表 4 大豆连作对 SOD 和 CAT 活性,MDA 含量及相对电导率的影响

Table 4 Effect of soybean successive cropping system on activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and the content of MDA

处理 Treatment	超氧化物酶活性 SOD Unit · g ⁻¹ FW	增减值 ±Δ%	过氧化氢酶活性 CAT mg · H ₂ O ₂ · g ⁻¹ · min ⁻¹	增减值 ±Δ%	丙二醛含量 MDA μMol · L ⁻¹	增减值 ±Δ%	相对电导率 Relative electronic rate(%)	增减值 ±Δ%
轮作 CK	40.50	100	18.15	100	44.61	100	27.24	100
连作 2 年 SSC for 2 years	37.31	-7.88	15.99	-11.90	48.27	108.20	38.38	140.89
连作 3 年 SSC for 3 years	34.81	-14.05	13.70	-24.51	63.11	141.46	39.29	144.24

植物体在逆境胁迫下,在进行有氧代谢过程中,体内会产生自由基,使脂质过氧化并导致细胞膜受伤害。这些变化被认为是组织衰老的原因^[10]。而超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)具有清除超氧自由基的作用^[6]。据我们测定,在连作胁迫条件下,SOD 和 CAT 活性均降低。与对照相比,连作 2 年和连作 3 年处理的 SOD 活性分别降低 7.88%和 14.05%;CAT 活性分别降低 11.90%和 24.51%。SOD 活性和 CAT 活性似有协同变化的关系。在 SOD 清除自由基时,它可以通过 $H_2O_2 + O_2^- \rightarrow OH^- + \cdot OH + ^1O_2$ 反应生成更多的自由基。CAT 能够清除上述反应中的 H_2O_2 ,它与 SOD 协同作用,可以更完善地保护膜系统免受自由基的伤害^[6]。

细胞的膜透性,通常用相对电导率(%)表示。在逆境胁迫下,细胞膜受到伤害,电解质渗出率增加,相对电导率增大,连作胁迫强度愈大,细胞膜透性就愈大。我们曾取 8 片功能叶进行测定(6 次重复),结果表明,连作 2 年和连作 3 年的相对电导率(%)分别是对照的 140.89%和 144.24%(表 4)。

丙二醛(MDA)是自由基启动的膜质过氧化产物之一,常作为反映膜质过氧化水平的指标^[1]。在本试验条件下,我们测定的结果是,连作 2 年和连作 3 年的 MDA 含量分别比对照增加 8.20%和 41.46%。

植物体在逆境伤害时,发生脂质过氧化作用,产生丙二醛,丙二醛含量愈高,膜质伤害愈重。

三、连作对大豆叶片游离脯氨酸的影响

植物体在逆境胁迫下,常导致游离脯氨酸(proline)的累积。据研究,脯氨酸胁迫指数与质膜的伤害率、日生长量胁迫指数呈极显著的正相关^[9]。我们测定的结果是,CK、连作 2 年和连作 3 年的脯氨酸含量分别是: 2.0077×10^{-2} 、 2.830^{-2} 和 $3.1707 \times 10^{-2} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。连作 2 年和连作 3 年的脯氨酸含量分别是对照的 140.96%和 157.73%。这说明,在本试验条件下,连作导致了对大豆生长的胁迫,并且连作年限增加,胁迫强度也增大。

结 论

1. 大豆在连作胁迫下,生长发育受阻,表现了相对生长率(RGR)、净光合生产率

(NAR)、群体生长率(CGR)等指标降低;落花落荚加重,产量降低,并且连作年限越长,减产幅度越大。

2. 连作导致生长发育受阻的大豆,叶片 Chla、Chlb 和类胡萝卜素等的含量降低。并且 Chl(a/b)比值下降,是使光合作用速率受抑制的重要原因。

3. 在连作胁迫下,大豆叶片的脂膜透性增大,相对电导率(%)增加;SOD、CAT 的活性降低;脂质过氧化作用加强,MDA 含量增加;脯氨酸含量因连作年限增长而增加。

参考文献

- [1] 王宝山,1988,生物自由基与植物膜伤害,植物生理学通讯,(1),12—16
- [2] 徐同等,1983,植物抗逆性测定方法,华中农学院学报,2(1):94—95
- [3] 于广武,1993,大豆连作障碍机制研究初报,大豆科学,12(3):237—242
- [4] 武宝轩,Glenn. W. T. 1988,植物生理学报,4(2):117—122
- [5] 陈由强,黄维,1987,植物生理学通讯,(6):1—8
- [6] 陈貽竹等,1988,低温对植物叶片超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化氢水平的影响,植物生理学报,14(4):323—328
- [7] 李晓萍等,1988,超氧自由基,超氧化物歧化酶及其植物衰老抗逆性的关系,沈阳农业大学学报 19(2):67—72
- [8] 汤章成,1986,植物生理生化进展,科学出版社,北京,4:51—59
- [9] 刘丽君等,1987,渗透胁迫对大豆幼苗过氧化物酶活性及脯氨酸含量的影响,6(3)221—224
- [10] Dhindsa R. S. et al., 1981, J. Exper. Botany, 32(126):93—101

EFFECT OF SOYBEAN SUCCESSIVE CROPPING ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDEX OF SOYBEAN

Zhao Shuying Zhao Jiuzhou Chen Jiemin Yang Fanren

(Heilongjiang Aug. — 1st Land Reclamation University, Mishan City, 158308)

Abstract

Soybean physiological and biochemical index as well as production in soybean successive cropping field was studied. The result showed that soybean's net assimilation rate and crop growth rate were reduced gradually in soybean successive cropping field year by year.

A result of poor growth caused by successive—cropping photosynthetic pigment which include Chla, Chlb and carotenoid of soybean leaves decreased. The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), reduced. Relative—electronic rate (%) increased. Content of MDA and proline increased under the stress of soybean successive cropping system. The percentage of fallen flowers and pods increased production decreased reached significant level, separately.

Key words Soybean; Stress of continuous—cropping; Physiological and biochemical index; Production