

外源脱落酸对苗期野生大豆抗盐能力的影响

张辉, 张文会, 苗秀莲, 刘丽丽

(山东省聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘要:以山东阳谷县境内野生大豆为材料,通过外施 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的脱落酸研究其对苗期野生大豆抗盐能力的影响。不同浓度的 NaCl 盐处理都抑制了野生大豆株高的生长,降低叶色值,并且严重降低光合系统 II (PS II) 的光能转换效率,Rubisco 含量减少,SOD 活性增加,MDA 含量上升,喷施脱落酸后可以在不同程度上缓解上述情况,脱落酸处理可以在叶色值、PS II 的光能转换效率和 Rubisco 含量方面明显减轻盐胁迫对野生大豆的损害,差异显著 ($P < 0.05$)。ABA 喷施对不同浓度的盐处理缓解程度也不尽相同,除株高及 SOD 活性指标外,ABA 喷施对 0.9% 的盐胁迫缓解能力最强。

关键词:野生大豆;盐胁迫;脱落酸

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2009)05-0828-05

Exogenous Abscisic Acid Strengthen Salt Tolerance of *Glycine soja* at Seedling Stage

ZHANG Hui, ZHANG Wen-hui, MIAO Xiu-lian, LIU Li-li

(College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng 252059, Shandong, China)

Abstract: In this paper, the influence of abscisic acid (ABA) on salt tolerance of wild soybean was researched during the seedling stage. The morphological parameter of plant height, photosynthetic apparatus parameter leaf color value, conversion efficiency of PS II light energy, content of Rubisco and MDA, and SOD activity were measured in order to evaluate the effect of exogenous ABA on the tolerance of salt stress comprehensively. Result showed that the plant height was inhibited; the leaf color value and the conversion efficiency of PS II light energy were reduced while the activity of SOD and the content of MDA were increased under the treatments of different NaCl salt concentration. After treated with ABA, the symptoms of salt stress can be relieved at different degree. The indexes such as the leaf color value, the conversion efficiency of PS II light energy and the content of Rubisco can be restored obviously after treated with ABA especially under the 0.9% NaCl treatment.

Key words: *Glycine soja*; Salt tolerance; Abscisic acid

随着工业现代化的推进和不合理灌溉的加剧,土壤次生盐渍化日趋严重,目前我国现有盐渍化土地面积为 0.346 亿 hm^2 ^[1],严重影响了栽培大豆的生产。野生大豆保留了许多栽培大豆驯化过程中丢失的优良基因,对于干旱,盐等不良环境表现出很强的耐性,因此,研究野生大豆对盐胁迫的适应机制,对于栽培大豆品种改良及充分利用盐渍化土地具有重要的意义。近年来,部分研究结果已经证实,脱落酸 (ABA) 可以提高许多植物的抗旱性、抗盐性^[2]。以山东阳谷县境内的野生大豆为材料,研究

脱落酸对野生大豆抗盐效果的影响,旨在为研究野生大豆抗盐机理及大豆资源品种的改良提供生理学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试材料为采自山东阳谷县境内的野生大豆。

1.2 方法

1.2.1 材料培养及处理 将种子用手术刀在种脐对面刻皮后浸种催芽,挑选发芽一致的种子播于盛

收稿日期:2009-04-09

作者简介:张辉(1984-),男,硕士,研究方向为植物分子遗传学。E-mail: zhas121@163.com。

通讯作者:张文会,教授。E-mail: whzhang@lcd.edu.cn。

有蛭石的珐琅盘中,每盘播 50 粒,播种后置于昼/夜温度为 25/20 °C、光照强度为 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的植物培养室培养。当幼苗长至第 1 片叶完全展开时进行 0.3%、0.6%、0.9% 计 3 个浓度梯度的氯化钠处理和氯化钠处理后喷施 ABA 处理。每个浓度处理 2 盘,对照用蒸馏水处理。具体做法是:盐处理 2 h 后,取不同浓度盐处理的野生大豆各一盘,向叶片喷施浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的脱落酸,另一盘盐处理作为对照组。

1.2.2 测定指标 株高:从处理后第 3 天用直尺测量植株从培养基表面到最顶端的长度,记录植株的生长情况,共测量 4 次。叶色值:从处理后第 3 天用 SPAD502 型叶色计测定,每株测定 1 片叶,每处理测定 10 株。PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m):在处理后第 3 天将叶片暗适应 20 min 后用 OS-30P 叶绿素荧光仪测定其荧光系数,每处理测定 5 株。

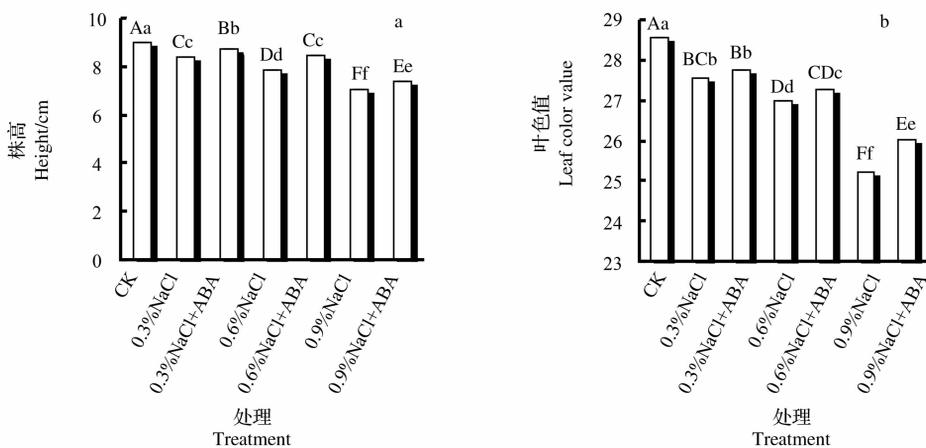


图 1 ABA 喷施对盐胁迫后株高及叶色的影响

Fig. 1 Effects of exogenous ABA on the height and leaf color value under salt stress

2.2 外施 ABA 对盐胁迫下野生大豆叶色值的影响

叶色值反应了植物体内叶绿素含量的多少,因此,可以通过测定野生大豆的叶色值来反映野生大豆光合作用的情况。与对照相比,不同浓度盐处理的野生大豆的叶色值分别下降了 3.5%、5.5%、11.7% (图 1b); ABA 喷施处理后,叶色值比对照分别下降了 2.7%、4.5%、8.8%;与单独盐处理相比,ABA 喷施处理比相应的盐处理缓解了 0.78%、0.98%、3.14%。其中对 0.9% 的盐处理叶色值缓解的幅度最大,差异达极显著水平 ($P < 0.01$)。由此可见,喷施 ABA 缓和了盐对叶绿体的损伤。

Rubisco 的分离: Rubisco 的提取、分离参照 Laemmli^[3]的方法。SOD 活性: 参照 Giannopolitis 和 Ries^[4]的方法测定。MDA 含量: 采用 Hodges 等^[5]方法测定。

采用 SPSS11.0 软件进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 ABA 对盐胁迫下野生大豆株高的影响

盐胁迫使大豆植株高度下降,主茎节数与分枝数减少^[6]。由图 1a 可以看出,盐处理使幼苗株高受到抑制:与对照相比,0.3%、0.6%、0.9% 的 NaCl 处理使株高分别下降了 6.50%、12.44%、21.63%; ABA 喷施处理后,明显缓解了盐毒害的症状,ABA 喷施使株高分别增加了 3.73%、7.19%、5.33%。由此可见,ABA 喷施缓和了盐对株高的抑制,并且对 0.6% 的盐处理缓解幅度最大,差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 脱落酸对盐胁迫下野生大豆光系统 II (PS II) 光能转化效率 (F_v/F_m) 的影响

F_v/F_m 是 PS II 最大光化学量子产量,反映 PS II 反应中心内禀光能转换效率或称最大 PS II 的光能转换效率。 F_v/F_m 可以衡量 PSII 的光抑制程度。将叶片暗适应 20 min 后测得:与对照相比 (图 2a),0.3%、0.6%、0.9% 的盐处理使 F_v/F_m 分别下降了 3.53%、5.95%、12.1%; ABA 喷施后的盐处理使 F_v/F_m 分别下降了 1.28%、3.73%、6.54%。相对与单独的盐处理,ABA 喷施处理明显缓解了盐对 F_v/F_m 的影响,分别缓解了 2.33%、2.36%、6.33%。由结果可知,脱落酸的喷施也能缓解盐胁迫

迫对 PSII 的光抑制程度,并且对 0.9% 的盐胁迫缓

解幅度最大,差异显著($P < 0.05$)。

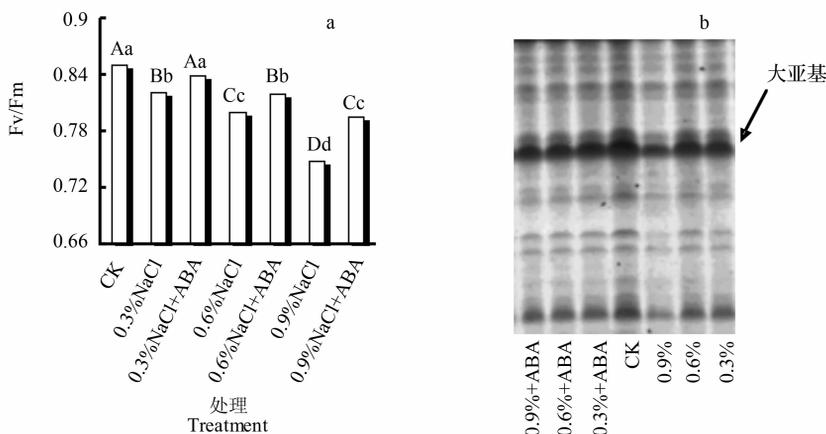


图2 ABA 喷施对盐胁迫后 Fv/Fm 及 Rubisco 的影响

Fig. 2 Effects of exogenous ABA on the Fv/Fm and Rubisco content under salt stress

2.4 外施 ABA 对盐胁迫下野生大豆 Rubisco 含量的影响

核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco) 是植物光合作用过程中固定 CO_2 的关键酶,同时也参与植物的光呼吸代谢途径,消耗植物光合作用合成的有机物,由此造成的净光合效率损失高达 50%^[7]。因此,研究盐胁迫对野生大豆 Rubisco 的影响对提高豆类植物逆境条件下的光合作用效率有重要意义。图 2b 是 Rubisco 的 SDS-PAGE 电泳结果。与对照相比,盐处理降低了 Rubisco 的含量,其中 0.9% 的盐浓度降低的最明显,0.3%、0.6% 的盐处理对 Rubisco 含量的影响较小。0.9% 的盐处理后喷施 ABA, Rubisco 含量恢复也较多;0.3%、0.6% 的盐处理喷施 ABA 后,对 Rubisco 含量的影响不明

显。由以上结果可知,0.9% 的盐浓度处理对 Rubisco 的含量抑制作用较大,在该浓度的盐胁迫下喷施 ABA 对 Rubisco 含量的缓解作用也较低浓度盐处理大。

2.5 外施 ABA 对盐胁迫下野生大豆 MDA 含量的影响

丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,在盐胁迫下,植物的光能利用和二氧化碳同化受到抑制,促进了活性氧生成和脂质过氧化^[8], MDA 是一种高活性的脂质过氧化物,它能交联核酸,糖类及蛋白质,从而进一步对质膜的结构和功能造成影响^[9]。MDA 含量的高低可以反应过氧化作用强弱及细胞膜和质膜的破坏程度^[10]。结果表明 (图 3a), 0.3%、0.6%、0.9% 的盐处理条件下, MDA 的含量分别比对照增加了 5.5%、15.0%、

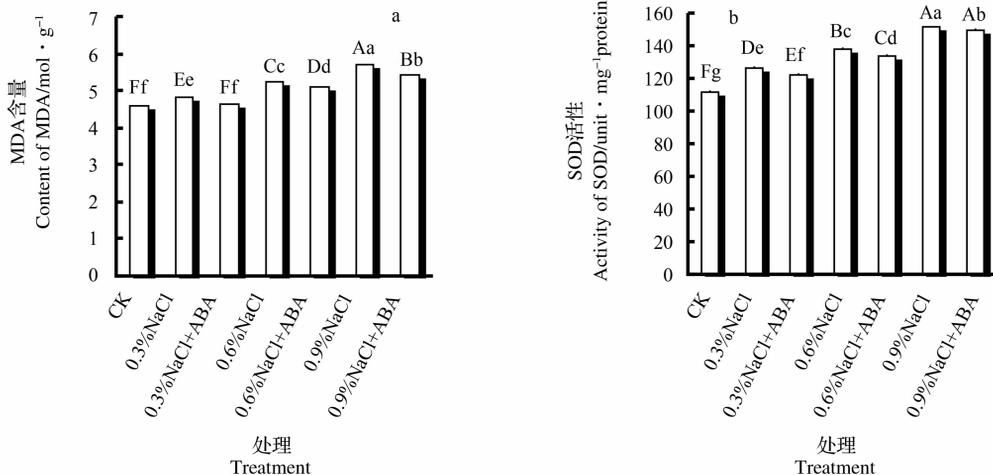


图3 ABA 喷施对盐胁迫后 MDA 及 SOD 的影响

Fig. 3 Effects of exogenous ABA on the MDA and SOD under salt stress

25.1%。喷施 ABA 的试验组比对照增加了 1.78%、11.58%、18.31%。并且 ABA 的喷施都缓解了盐胁迫条件下 MDA 的积累,各浓度条件下,分别缓解了 3.72%、2.95%、5.46%,对不同的盐浓度下 MDA 积累的缓解能力不同,0.6% 的盐胁迫缓解能力最差,0.9% 的盐浓度缓解能力最强。

2.6 外施 ABA 对盐胁迫下野生大豆中 SOD 活性的影响

植物体在正常的条件下,光合器官除产生 O_2 外,还生成具有破坏性的活性氧^[11],盐胁迫条件下会产生大量的活性氧。活性氧的过量积累会造成对光合机构的破坏。引发光氧化损害的两类活性氧是超氧阴离子 O_2^- 和单线态氧 1O_2 。植物体内存在一系列的非酶类抗氧化物质,如抗坏血酸、谷胱甘肽、类黄酮、类胡萝卜素和 α -生育酚等。另外,还存在一些清除酶类,主要包括 SOD、CAT、APX 与谷胱甘肽还原酶(GR)等^[12],这些抗氧化物质能够及时清除活性氧以减轻或避免活性氧对植物所造成的光氧化破坏^[13]。SOD 是植物氧代谢中一种极为重要的酶,它歧化 O_2^- 为 H_2O_2 和 O_2 ,从而调节植物体内 O_2 和 H_2O_2 的浓度。SOD 活性的变化与大豆耐盐性存在密切的关系。结果表明,不同浓度的盐处理都引起 SOD 活性的上升(图 3b),与对照相比,0.3%、0.6%、0.9% 的盐处理分别使 SOD 活性增加 13.13%、23.90%、36.64%;与单独的盐处理相比,盐处理后喷施 ABA 使 SOD 活性上升的幅度略有减缓,分别减缓 3.11%、2.63%、1.75%,喷施 ABA 对 3 种浓度的盐处理减缓幅度都不大。

3 讨论

ABA 作为一种胁迫诱导激素和生长抑制剂,长期以来被大量研究认为是植物抗性的潜在调节物质^[14],并在转化环境信号到植物基因表达过程中起支配作用^[15]。近年来,关于外源 ABA 喷施同其他环境因子共同作用的研究较多,由于 ABA 的生理功能是多方面的,这样就使 ABA 的研究变得十分复杂。Lenzi 等^[16]发现,ABA 抑制向日葵的茎和根生长,而 Yamaguchi 和 Street^[17]报道,ABA 促进离体大豆的根部生长。生长前期对喷施外源 ABA 影响植物生长的研究结果不尽一致,可能是由于所用材料及测定时期不同所致,也可能归因于植物各种激素间复杂的交互作用^[18]。

以山东阳谷县境内的野生大豆为材料,从形态和生理层面研究了 ABA 对不同程度盐胁迫的缓解能力差异。通过测量形态指标株高,光合器官的指标:叶色值、光系统 II (PS II) 光能转化效率 (Fv/Fm)、核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)含量,膜损伤代表性物质 MDA 含量,活性氧清除酶类中代表性的酶类 SOD 综合衡量 ABA 对野生大豆盐耐受性的影响。结果表明,0.3%、0.6%、0.9% 的盐浓度胁迫下,综合各种形态及生理指标,都对野生大豆都造成了不同程度的伤害,并且伤害程度随盐浓度的增大而增强。喷施外源 ABA 后,可以在不同程度上缓解由于盐浓度升高而对植物造成的伤害; $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ABA 喷施对 0.6% 的盐处理株高伤害缓解幅度最大;对 0.9% 的盐处理的叶色值、 Fv/Fm 、Rubisco 含量这些光合器官指标缓解幅度最明显;对 0.9% 的盐处理 MDA 含量的缓解能力最强,对 0.6% 的盐胁迫 MDA 含量缓解能力最差;ABA 喷施对 3 种盐处理浓度的活性氧清除代表性酶类 SOD 活性都有减缓,但是减缓程度并不十分显著,可能 SOD 酶的表达水平还受其它因素诱导。

参考文献

- [1] 杨光宇,王洋,马晓萍. 中国野生大豆脂肪含量及其脂肪酸组成的研究[J]. 大豆科学,2000,19(3):258-262. (Yang G Y, Wang Y, Ma X P. Research on fat content and composition of wild soybean (*G. soja*) in China [J]. Soybean Science, 2000, 19(3): 258-262.)
- [2] Zhang J, Davies W J. Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth [J]. Plant Cell Environment, 1990, 13: 277-285.
- [3] 黎裕. 作物抗旱鉴定方法与指标 [J]. 干旱地区农业研究, 1993, 11: 91-99. (Li Y. Study methods of drought-resistant crops and identification indexes [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 1993, 11: 91-99.)
- [4] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide Dismutases. I. Occurrence in higher plants [J]. Plant Physiology, 1977, 59: 309-314.
- [5] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assay of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227: 680-685.
- [6] 常汝镇, 陈一舞. 盐对大豆农艺性状及籽粒品质的影响 [J]. 大豆科学, 1994, 13(2): 101-105. (Chang R Z, Chen Y W. Effect of salt on agricultural characters and chemical quality of seed in soybeans [J]. Soybean Science, 1994, 13(2): 101-105.)
- [7] Lundqvist T, Schneider G. Crystal structure of activated Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase complexed with its substrate, ribulose-1,5-bisphosphate [J]. Journal of Biology Chemistry, 1991,

266;12604-12611.

- [8] 刘友良,江良驹. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性[M]. 植物生理与分子生物学(第二版),北京:科学出版社,1999:752-767. (Liu Y L, Jiang L J. The reaction and tolerance of plant after salt stress[M]. Plant Physiology and Molecular Biology (The second page), Beijing: Scientific Press, 1999:752-767.)
- [9] 彭志红,彭克勤. 渗透胁迫下植物的脯氨酸积累的研究进展[J]. 中国农学通报,2002,18(4):80-83. (Peng Z H, Peng K Q. Research progress on accumulation of proline under osmotic stress in plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2002, 18(4): 80-83.)
- [10] 李明,王根轩. 干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 生态学报,2002,22(4):503-507. (Li M, Wang G X. Effect of drought stress on activities of cell defense enzymes and lipid peroxidation in glycyrrhiza uralensis seedlings[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(4): 503-507.)
- [11] Asada K, Takahashi M. Production and scavenging of active oxygen in *Photosynthesis*[M]// Kyle D J, Osmond C B, Amtzen C J. Photoinhibition. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1987: 227-287.
- [12] Song X S, Hu W H, Mao W H, et al. Response of ascorbate peroxidase isoenzymes and ascorbate regeneration system to abiotic stresses in *Cucumis sativus* L.[J]. Plant Physiology et Biochemistry, 2005, 43: 1082-1088.
- [13] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49: 249-279.
- [14] Zeevaert J A D. Abscisic acid metabolism and its regulation [M]. // Hall M, Libbenga K. Biochemistry and molecular biology of plant hormones. Amsterdam: Elsevier Science BV, 1999, 189-207.
- [15] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2002, 53: 247-273.
- [16] Lenzi A, Fambrini M, Barotti S, et al. Seed germination and seedling growth in a wilted mutant of sunflower (*Helianthus annuus* L.); effect of abscisic acid and osmotic potential. [J]. Environmental and Experimental Botany 1995, 35: 427-434.
- [17] Yamaguchi T, Street H E. Stimulation of the growth of excised cultured roots of soya bean by abscisic acid[J]. Annals of Botany, 1977, 41: 1129-1133.
- [18] Gazzarrini S, McCourt P. Genetic interactions between ABA, ethylene and sugar signaling pathways[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2001, 4: 387-391.

(上接第 823 页)

- [5] 曹敏建,佟占昌,韩明祺. 磷高效利用的大豆遗传资源的筛选与评价[J]. 作物杂志, 2001(4): 22-24. (Cao M J, Tong Z C, Han Q M. Evaluation and filter on phosphate high active exploit of soybean inheritance resources [J]. Crop Magazine, 2001(4): 22-24.)
- [6] 曹爱琴,严小龙. 不同供磷条件下大豆根构型的适应性变化[J]. 华南农业大学学报, 2000, 22(1): 21. (Cao A Q, Yan X L. Adaptation of soybean root architecture under different P condition [J]. Journal of South China Agricultural University, 2000, 22(1): 21.)
- [7] 丁洪,李生秀,郭庆元. 酸性磷酸酶活性与大豆耐低磷能力相关研究[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(2): 123-128. (Ding H, Li S X, Guo Q Y. Study on correlation between acid phosphatase activity and low phosphorus tolerance of soybean [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 1997, 3(2): 123-128.)
- [8] Gerloff G C, Gabelman W H. Genetic basis of inorganic plant nutrition[M]. Encyclopedia of Plant Physiology (Lauchli A, Bielecki R L. eds). Springer-verlay, Berlin, 1983: 453-480.
- [9] 王应祥,廖红,严小龙. 大豆适应低磷胁迫的机理初探[J]. 大豆科学, 2003, 22(3): 208-212. (Wang Y X, Liao H, Yan X L. Preliminary studies on the mechanisms of soybean in adaption to low P stress [J]. Soybean Science, 2003, 22(3): 208-212.)
- [10] 王毅. 植物耐低磷胁迫遗传学研究策略[J]. 热带农业科学, 2004, 24(2): 34-41. (Wang Y. Strategy genetics research on plant tolerant to low phosphorus [J]. Chinese Journal Tropical Agriculture, 2004, 24(2): 34-41.)
- [11] 董钻. 盆栽条件下大豆冠根比研究初报[J]. 吉林农业科学, 1982, 4: 22-26. (Dong Z. Study on root/shoot ratio during pot experiment [J]. Jilin Agricultural Science, 1982, 4: 22-26.)
- [12] 杨秀红,吴宗琪,张国栋. 对肥水条件反应不同的大豆品种根系性状的比较研究[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(3): 23-25. (Yang X H, Wu Z P, Zhang G D. A comparative study on characteristics of root system between drought resistant and water-fertilizer favorite soybean varieties [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2001, 23(3): 23-25.)
- [13] Hudak C M. Root distribution and soil moisture depletion pattern of a drought-resistant soybean plant introduction [J]. Agronomy Journal, 1996, 88: 478-485.
- [14] 金剑,刘晓冰,王光华,等. 大豆生殖生长期根系形态性状与产量关系研究[J]. 大豆科学, 2004, 23(4): 253-257. (Jin J, Liu X B, Wang G H, et al. Study on relationship between root morphology during reproductive and yield in soybean [J]. Soybean Science, 2004, 23(4): 253-257.)