

叶面喷施甲醇对不同土壤条件下丹波黑大豆的生长及生理特性的影响

武孔焕¹, 谭浩¹, 王奇峰¹, 赵艳¹, 李昆志¹, 王永雄², 陈丽梅¹

(1. 昆明理工大学 生命科学与技术学院 生物工程技术研究中心, 云南 昆明 650500; 2. 西南大学 动物科技学院, 重庆 400716)

摘要:以“丹波黑”大豆为材料, 研究叶面喷施 5% (v/v) 甲醇对中性土壤、红壤和黄壤条件下大豆的生长和生理特性的影响。结果表明: 叶面喷施甲醇后, 中性土壤、红壤、黄壤中大豆的株高均显著增加, 叶片相对叶绿素含量无显著变化; 中性土壤和红壤中大豆叶片鲜重和干重无显著变化, 黄壤中大豆叶片重量显著增加。随着甲醇处理时间的延长, 中性土壤中大豆叶片可溶性糖含量呈先上升后下降的趋势, 可溶性蛋白含量呈先下降后上升趋势; 红壤中可溶性糖含量缓慢增加, 可溶性蛋白含量呈先上升后下降趋势; 黄壤中叶片可溶性蛋白和可溶性糖含量均呈现显著递增的趋势。以上结果表明, 叶面喷施 5% 甲醇可以显著促进黄壤中大豆的生长。

关键词: 甲醇; 丹波黑大豆; 生理特性; 酸性土壤

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)03-0431-05

Effects of Foliar Methanol Application on Growth and Physiological Characteristics of Tamba Black Soybean Grown in Different Soil

WU Kong-huan¹, TAN Hao¹, WANG Qi-feng¹, ZHAO Yan¹, LI Kun-zhi¹, YU Yong-xiong², CHEN Li-mei¹

(1. Biotechnology Research Center, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan; 2. College of Zoological Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Effects of foliar application of 5% (v/v) methanol on growth and physiological characteristics of Tamba black soybean grown in neutral, red and yellow soil were investigated in this study. The results showed that foliar methanol application significantly increased the plant height and had no significant effect on relative leaf chlorophyll content of soybean grown in neutral, red and yellow soil. The effects of methanol treatment on leaf fresh weight and dry weight were not obvious when soybean was grown on neutral soil and red soil. However, methanol treatment increased weight of soybean in yellow soil significantly. With the extension of methanol treatment time, soluble sugar content of soybean grown in neutral soil, firstly increased and then decreased, but soluble protein content firstly decreased and then increased; in red soil soluble sugar content slowly increased, soluble protein content firstly increased and then decreased; both of them significantly increased in yellow soil. In conclusion, foliar application of 5% methanol could significantly promote soybean growth in yellow soil.

Key words: Methanol; Tamba black soybean (*Glycine max* L. Merrill); Physiological characteristics; Acid soil

酸性土壤是 pH 值小于 7 的土壤总称, 包括砖红壤、赤红壤、红壤、黄壤和燥红壤等土壤, 在世界范围内分布广泛。酸性土壤地区降水充沛, 淋溶作用强烈, 盐基饱和度较低, 酸度较高, pH 值一般为 4.5-6.0。在酸性土壤中有高浓度的 H^+ 、 Al^{3+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 等, 具有多种植物生长障碍因素, 因此也称为逆境土壤。酸性土壤的改良难度大, 已成为农业生产发展的限制因素。Aftab 等^[1]研究发现在含高浓度铝的酸性土壤中, 青蒿的生长被严重抑制, 其净光合速率、气孔导度显著降低, 叶内 CO_2 浓度及总叶绿素含量显著下降; 叶片中膜脂过氧化程

度加剧。

慕莉莉等^[2]研究表明施用外源甲醇能刺激萝卜苗的生长。Nonomura 等^[3]研究表明在植物叶片上施用不同浓度的甲醇能使气孔打开, 促进气孔的运动, 增加植物的蒸腾速率和气孔导度, 使 CO_2 进入量增加, 光合作用增强, 从而促进植物生长。在干旱胁迫条件下, 用甲醇喷施农作物如棉花^[4]、大豆^[5]可以减少植物对水分的需求, 提高植物应对胁迫的能力。本研究考察了盆栽条件下丹波黑大豆在中性土壤、红壤和黄壤中叶面喷施 5% (v/v) 甲醇对大豆的生长和生理特性的影响, 旨在为酸性土壤

收稿日期: 2012-02-14

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2007CB108901)。

第一作者简介: 武孔焕 (1985-), 女, 在读硕士, 研究方向为植物代谢基因工程。E-mail: wukonghuan23@163.com。

通讯作者: 陈丽梅 (1963-), 女, 教授, 主要从事植物代谢基因工程研究。E-mail: chenlimeikm@yahoo.com.cn。

的合理利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计

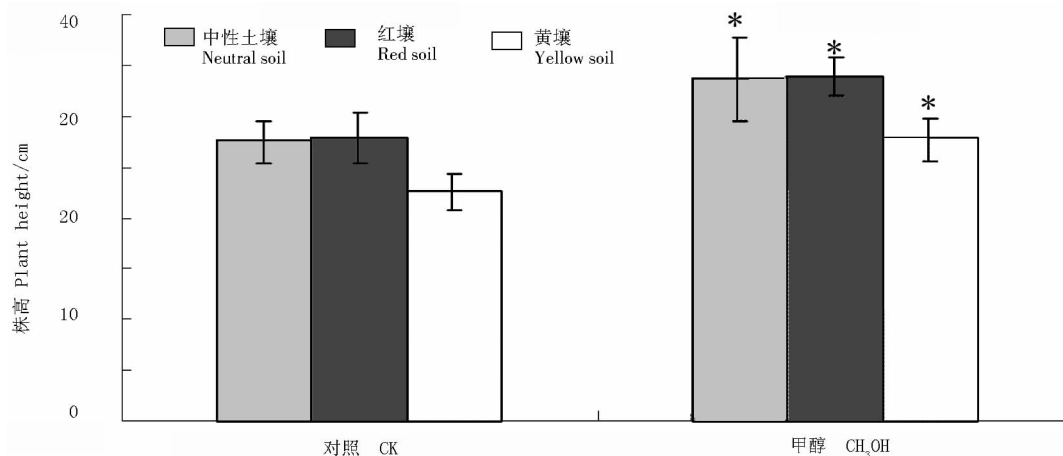
丹波黑大豆为日本引进品种。塑料盆内分别装入 1.0 kg 的土壤,中性土壤(pH 7.14)、红壤(pH 5.60)和黄壤(pH 4.55)各 2 盆,然后放置在塑料托盘上。每盆播种 15 粒,在托盘中灌水,通过土壤毛细管作用吸水湿润整盆土壤。在昼/夜温度为 30/25℃,12 h 光照,光照强度为 $1\,200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的温室中培养。

大豆植株生长 30 d 后,在大豆叶面喷施 5% (v/v) 的甲醇,每盆喷 20 mL,于每周一、周四下午 17:30 进行喷施,对照用相同体积的自来水喷施,喷完后用塑料布遮盖过夜,防止甲醇的挥发。喷施 28 d 后,对大豆生长的相关指标和生理特性进行测定。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 株高和茎节长度 用直尺测量所有大豆植株地上部分的株高及其每个节间的长度。

1.2.2 叶片相对叶绿素含量、鲜重及干重 选取每个植株成熟叶片,用叶绿素计(Minolta Camera, 日本)测定其叶绿素相对含量,然后用天平称量每个叶片的鲜重,在 65℃ 烘干至恒重后称量每个叶片的干重。



图中数值为平均值 \pm 标准差; * 和 ** 分别表示处理与对照间在 0.05 和 0.01 水平存在显著性差异,下同。

Values represent means \pm SD (n = 10); * and ** indicates significant difference between treatments and control at 0.05 and 0.01 level, respectively, the same below.

图 1 施用甲醇对大豆株高的影响

Fig. 1 Effect of foliar application of methanol on plant height of soybean

2.1.2 节间长度 如图 2 所示,叶片喷施甲醇有效的增加了大豆节间长度,与对照相比,在中性土壤、红壤和黄壤中生长的大豆的平均茎节长度分别增加了 20.0%、25.0% 和 16.2%。

2.1.3 叶片重量 如图 3 所示,叶面喷施甲醇对中

1.2.3 可溶性糖和蛋白含量的测定 上述各项指标测完之后,再对大豆叶片喷甲醇,对照喷水,在喷后 0.5、2、6、12 和 24 h 取其成熟叶片 0.5 g,每盆大豆取样 3 次。用液氮速冻后置于 -80℃ 备用。大豆叶片用液氮充分研磨后用 ddH₂O 抽提可溶性糖,根据 Yemm 和 Willis^[6] 的方法测定可溶性糖的含量;用蛋白抽提缓冲液 (50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH 8.0, 甘油 10%, β -巯基乙醇 10 mmol·L⁻¹, PMSF 1.0 mmol·L⁻¹, EDTA 2.0 mmol·L⁻¹, Insoluble PVP 10%) 提取可溶性总蛋白,采用 Bradford 法测定可溶性总蛋白质的浓度^[7]。

1.3 数据分析

用 Excel 2003 对各项指标进行统计分析,并用 *t* 测验检测统计显著性差异。

2 结果与分析

2.1 甲醇对不同土壤条件下大豆农艺性状的影响

2.1.1 株高 如图 1 所示,叶片喷施 5% 甲醇显著增加了 3 种土壤中生长的大豆株高,与对照相比,在中性土壤、红壤和黄壤中生长的大豆株高分别增加了 21%、22% 和 23%,甲醇对黄壤中大豆生长的促进效果好于中性土壤和红壤。

性土壤和红壤中大豆叶片鲜重和干重的影响不明显。而在黄壤中叶面喷施甲醇显著提高大豆叶片的鲜重和干重,其鲜重和干重分别达到对照的 1.94 倍和 1.98 倍。

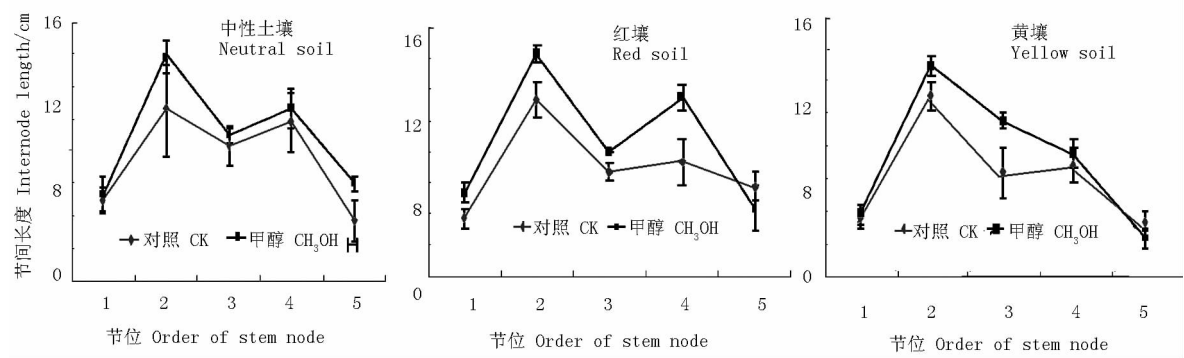


图 2 施用甲醇对大豆茎节长度的影响

Fig. 2 Effect of foliar methanol application on stem node length of soybean

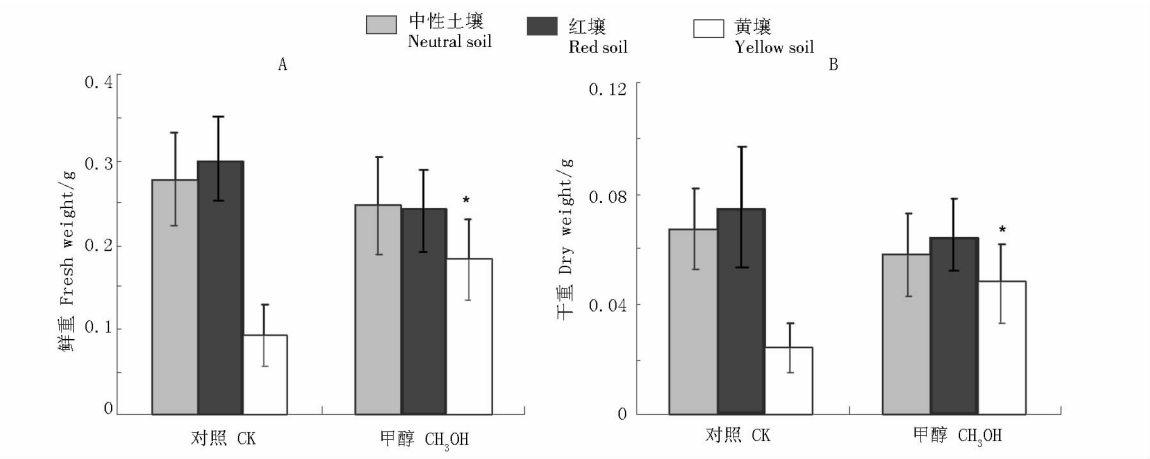


图 3 施用甲醇对大豆叶片鲜重和干重的影响

Fig. 3 Effect of foliar methanol application on leaf fresh and dry weight of soybean

2.2 甲醇对不同土壤大豆生理特性的影响

2.2.1 叶绿素含量 如图4所示,中性土壤和红壤中甲醇处理使大豆叶片叶绿素的相对含量有所增加,而在黄壤中生长的大豆叶片叶绿素相对含量有所降低,但均未达到显著水平,这说明叶面喷施5%甲醇对3种土壤中生长的大豆叶片叶绿素相对含量的影响不明显。

2.2.2 可溶性糖含量 如图5所示,中性土壤中大豆叶片的可溶性糖含量随着甲醇处理时间的延长呈先上升后下降的趋势(图5A),在0.5 h达到最高水平,极显著高于其它测定值,然后开始下降,在12和24 h时可溶性糖含量分别极显著和显著低于未处理时的水平。甲醇处理后红壤中大豆叶片的可溶性糖含量在0.5~12 h无显著变化,但在24 h时升

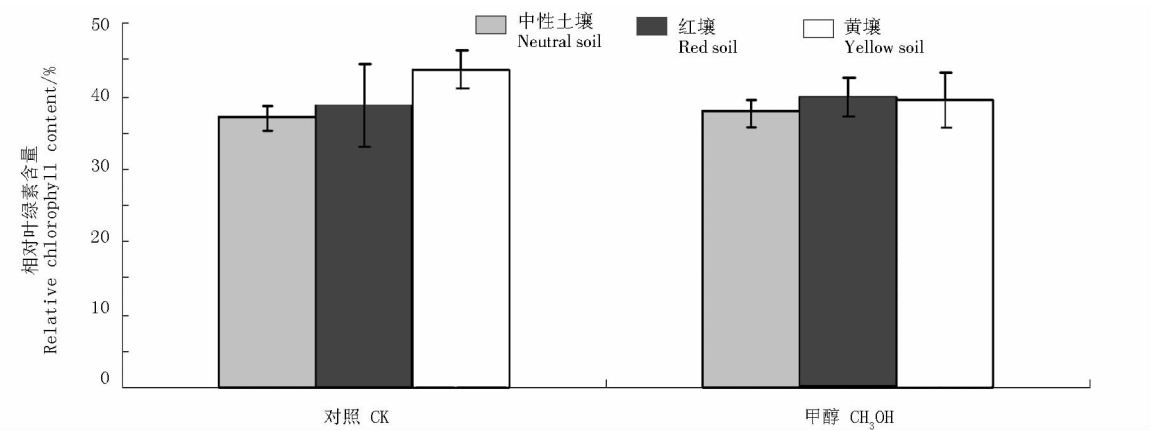


图 4 施用甲醇对大豆相对叶绿素含量的影响

Fig. 4 Effect of foliar methanol application on relative chlorophyll content of soybean

高,极显著高于其它测定值,达到对照的 1.55 倍(图 5B)。黄壤中大豆叶片的可溶性总糖含量随着甲醇处理时间的增加表现出显著递增的趋势,在 24 h 达到最大值,此时可溶性糖含量是对照的 1.34 倍(图 5C)。以上结果表明在 3 种不同土壤中生长时大豆叶片可溶性糖含量对甲醇处理的响应模式

不同,甲醇处理后后期显著降低中性土壤中大豆叶片可溶性糖的合成,红壤中大豆叶片可溶性糖的含量对甲醇刺激的反应速度较慢,处理 24 h 才开始有明显的响应,而在黄壤中甲醇对大豆叶片可溶性糖的合成具有刺激作用且持续时间最长。

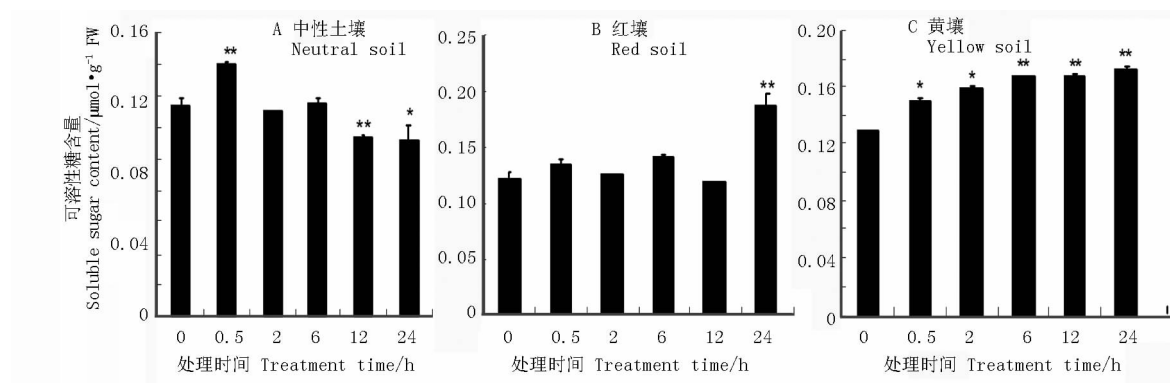


图 5 施用甲醇对大豆叶片可溶性糖含量的影响

Fig. 5 Effect of foliar methanol application on leaf soluble sugar content of soybean

2.2.3 可溶性蛋白质含量 如图 6 所示,中性土壤中大豆的叶片可溶性蛋白的含量随着甲醇处理时间的延长呈先下降后上升的趋势,在 0.5 h 可溶性蛋白含量下降到最低点,极显著低于未处理时叶片中可溶性蛋白质含量,然后升高,在 24 h 时恢复至其未处理时的水平(图 6A)。红壤中大豆的叶片可溶性蛋白含量随着甲醇处理时间的增加呈先上升后下降的趋势,在 0.5 h 可溶性蛋白含量显著上升,在 2 h 上升至最大值,在 12~24 h 回落接近未处理时的水平(图 6B)。黄壤中大豆叶片的可溶性蛋白含量的变化趋势与可溶性糖含量的变化相似,随着甲醇处理时间的延长表现出显著递增的趋势,在 24 h 达到最大值,0.5~24 h 叶片可溶性蛋白含量均极显著高于对照(图 6C)。以上结果表明大豆在 3 种不同土壤中生长叶片可溶性蛋白含量对甲醇处理有不同的应答模式,甲醇处理前期显著降低中性土壤中大豆叶片可溶性蛋白的合成,增加红壤中大豆叶片可溶性蛋白的合成,甲醇对黄壤中大豆的叶片可溶性蛋白合成具有刺激作用且持续的时间较红壤中延长。

3 讨论

施用外源性甲醇能刺激植物生长^[8]。Nono

mura 等^[3]研究发现,硬粒小麦喷施 20% 甲醇后麦粒重量和麦粒数均显著增加。Devlin 等^[9]研究表明,10% 甲醇喷施小麦后,其株高、鲜重和干重显著增加。本研究结果证实叶片喷施 5% 甲醇能促进大豆在 3 种土壤条件下的生长,甲醇对酸性黄壤中大豆生长的刺激作用更为明显。

酸性土壤的主要障碍因子是低 pH 值,游离铝和交换性铝浓度过高(铝毒),缺失磷、钾、钙、镁和铜等元素。各种障碍因子在不同生态条件下其危害程度不同,有时只是某一因素起主导作用,而有时则是几种因素的综合作用。逆境胁迫植物体内可能会产生很多有毒物质,而可溶性糖参与逆境胁迫植物有毒物质脱毒过程的糖基化作用^[10]。王莎莎等^[11]的研究表明甲醇处理拟南芥明显增加了其叶片中可溶性蛋白的含量,说明甲醇刺激其叶片中蛋白质的合成,这应该是基因表达水平增加的反应。对基因的表达谱进行 RT-PCR 分析结果证实拟南芥大多数光合作用相关基因的表达可被甲醇诱导。Downie 等^[12]用 cDNA 芯片分析 10% 甲醇处理拟南芥的基因表达谱,结果显示有 484 个基因的表达受到显著影响。本研究结果表明随着甲醇处理时间的增加,黄壤中大豆叶片可溶性蛋白和可溶性糖含量都呈显著递增的趋势,可能是甲醇刺激了可溶性糖和可溶性蛋白的合成,以适应酸性土壤条

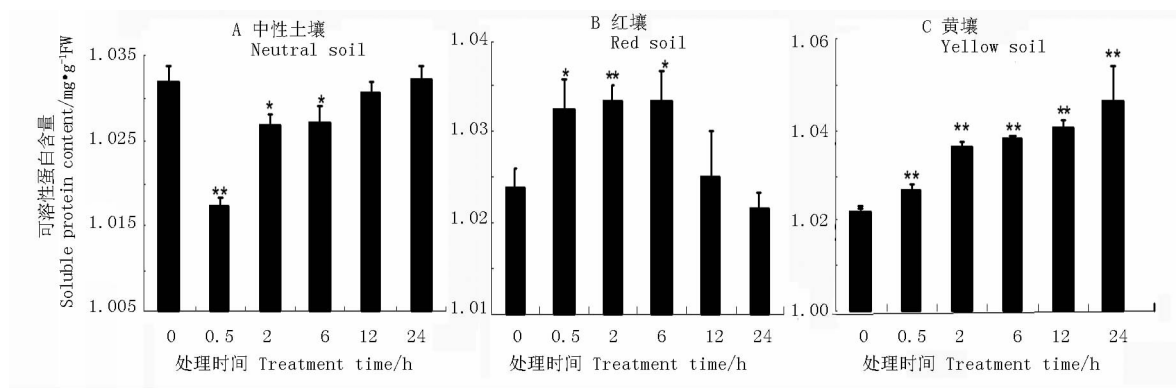


图6 施用甲醇对大豆叶片蛋白含量的影响

Fig. 6 Effect of foliar methanol application on leaf soluble protein content of soybean

件。施用甲醇显著刺激酸性黄壤上大豆的生长,说明使用甲醇可以缓解酸性土壤胁迫对其生长的抑制作用,这有可能是改善酸性土壤中植物生长的一个有效措施。

本研究中甲醇处理增加大豆植株高度和节间长度,有可能是通过调节激素如生长素和赤霉素的合成增加细胞的分裂和伸长作用来实现,甲醇处理可能改变了和这些激素合成相关基因的表达水平,促进其生长。

参考文献

- [1] Aftab T, Khan M M A, Idress M, et al. Effects of aluminum exposures on growth, photosynthetic efficiency, lipid peroxidation, antioxidant enzymes and artemisinin content of *Artemisia annua* [J]. *Journal of Phytology*, 2010, 2(8): 23-37.
- [2] 慕莉莉, 李国清. 外施甲醇对萝卜苗的影响[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(30): 16728-16730. (Mu L L, Li G Q. Effect of exogenous application of methanol on radish seedling [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(30): 16728-16730.)
- [3] Nonomura A M, Benson A A. The path of carbon in photosynthesis; Improved crop yields with methanol [J]. *Proceedings of the National Academy Sciences of the USA*, 1992, 89 (20): 9794-9798.
- [4] Makhadm M L, Malik M N A, Din S U, et al. Physiological response of cotton to methanol foliar application [J]. *Journal of Research Sciences*, 2002, 13: 37-43.
- [5] Paknejad F, Mirakhori M, Ahmadi M J A, et al. Physiological response of soybean (*Glycine max*) to foliar application of methanol under different soil moistures [J]. *American of Agricultural and Biological Sciences*, 2009, 4(4): 311-318.
- [6] Yemm E W, Willis A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone [J]. *Biochemical Journal*, 1964, 67 (3): 608-614.
- [7] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 (第三版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003. (Zhang Z L, Qu W J. Guidance of plant physiology experiments (The Third Edition) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003.)
- [8] 慕莉莉. 甲醇对植物生长的影响 [J]. *现代农业科技*, 2010(11): 13-14. (Mu L L. Influence of methanol on plant growth [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2010(11): 13-14.)
- [9] Devlin R M, Bhowmik P C, Karczmarczyk S J. Influence of methanol on plant growth [J]. *Quarterly*, 1994, 22(4): 102-108.
- [10] Jha A B, Dubey R S. Carbohydrate metabolism in growing rice seedlings under arsenic toxicity [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(7): 867-872.
- [11] 王莎莎. C1 化合物影响模式植物拟南芥和烟草生长的生理基础和分子机理研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2011. (Wang S S. Researches on physiological and molecular mechanisms underlying influence of C1 compounds on plant growth in model plants [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2011.)
- [12] Downie A, Miyazaki S, Bohnert H, et al. Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation [J]. *Phytochemistry*, 2004, 66(16): 2306-2316.