

模拟酸雨对不同基因型大豆抗氧化系统的影响

刘丽欣, 田一丹, 吴园园, 邢兴华, 江洪强, 周 琴, 邢 邯, 江海东

(南京农业大学/农业部南方作物生理生态重点开放实验室/国家大豆改良中心, 江苏 南京 210095)

摘要:以南农 1138-2 和科丰 1 号为试验材料, 通过盆栽试验研究了 4 种 pH 酸雨处理对大豆叶片抗氧化系统的影响。结果表明: 中度酸雨($\text{pH} \geq 3.5$)处理, 除对南农 1138-2 的 POD 活性影响显著外, 对 2 个品种的活性氧水平, 抗氧化酶、非酶系统和 MDA 含量影响均不显著, 且在苗期和开花期均保持比较稳定的状态, 南农 1138-2 略有减产, 但科丰 1 号增产显著; 强酸雨($\text{pH} 2.5$)胁迫后, 活性氧水平升高, 活性氧产生与清除的代谢系统平衡被破坏, 丙二醛含量增加, 膜脂过氧化加剧, 且随处理次数增加伤害程度加重, 产量降低显著, 其中科丰 1 号产量降幅较大, 受害程度大于南农 1138-2。综合分析表明, 中度酸雨处理, 科丰 1 号较南农 1138-2 有更好的耐酸雨性, 而强酸雨胁迫下, 科丰 1 号的受害程度较南农 1138-2 严重。

关键词: 模拟酸雨; 大豆; 活性氧水平; 抗氧化酶; 抗氧化剂

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2014)01-0041-05

Effect of Simulated Acid Rain on Antioxidative Characteristics in Different Genotypes Soybean

LIU Li-xin, TIAN Yi-dan, WU Yuan-yuan, XING Xing-hua, JIANG Hong-qiang, ZHOU Qin, XING Han, JIANG Hai-dong

(Nanjing Agricultural University/Ministry of Agriculture Key Laboratory of Crop Physiology and Ecology in Southern China/National Center for Soybean Improvement, Nanjing 210095, China)

Abstract: Nannong1138-2 and Kefeng 1 were used to study the effects of simulated acid rain(SAR)with different pH on the physiological characteristics in leaves of soybean. The results showed that the moderate acidity of SAR($\text{pH} \geq 3.5$)had no significant effects on the level of reactive oxygen species, antioxidant enzymes, non-enzymatic systems and MDA content except the POD activity of Nannong1138-2, and remained relatively stable during growing period. The yield of Nannong1138-2 decreased, while that of Kefeng 1 increased significantly at pH3.5 and pH 4.5 treatments. High acidity of SAR($\text{pH} 2.5$)increased reactive oxygen species level, antioxidant enzyme activities and MDA content. The damage of pH2.5 SAR increased with the treatment times and finally caused yield reduction. Kefeng 1 was hurt more than Nannong 1138-2 at high acidity of SAR. In conclusion, Kefeng 1 had better acid rain resistance under the moderate acid rain stress, while worse resistance under high acidity of SAR stress.

Key words: Simulated acid rain; Soybean; Reactive oxygen species level; Antioxidant enzymes; Antioxidants

酸雨对植物影响最直接的表现是对植物叶片的伤害, 除表现为有伤斑, 叶绿素含量降低外, 还体现在对叶片抗氧化系统的影响上^[1-2]。在酸雨对植物抗氧化系统影响方面已经有了大量的研究, 严重玲等^[3]研究认为 SOD、POD、CAT 活性随酸雨 pH 的降低呈先升后降的单峰曲线变化。梁骏^[4]研究发现随着酸雨强度的增加, POD 活性有所提高, CAT 活性随着酸雨强度和时间的变化呈先提高后降低的趋势, MDA 含量增加, 细胞膜氧化破坏, 这种变化随着酸度的增加愈加明显。Yu 等^[5]发现酸雨能够增加 MDA 含量。近年来, 酸雨的强度和频率均有增加的趋势, 且夏季是酸雨发生频率较高的季节。大豆是我国重要的经济作物, 且对酸雨较敏感, 而

目前有关酸雨胁迫对大豆影响的研究较少, 且主要集中在种子萌发和幼苗阶段, 对大豆整个生育期影响还鲜见报道。因此, 现以对酸雨敏感度不同的 2 个大豆品种为试验材料, 研究从苗期开始到花期结束, 酸雨胁迫对大豆抗氧化系统的影响, 以期发现不同基因型大豆对酸雨胁迫的响应及生理机制, 为大豆抗性品种选育提供理论根据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为科丰 1 号(耐酸雨型)、南农 1138-2(敏感型), 由南京农业大学国家大豆改良中心提供。

收稿日期: 2013-06-26

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划(2009BADA8B02); 江苏省重点科技支撑与自主创新示范工程(BE2008618)。

第一作者简介: 刘丽欣(1987-), 女, 硕士, 主要从事作物逆境生理研究。E-mail: 2010101041@njau.edu.cn。

通讯作者: 江海东(1968-), 男, 博士, 副教授, 主要从事作物生理生态研究。E-mail: hdjiang@njau.edu.cn。

1.2 试验设计

试验在南京农业大学牌楼试验站进行,采用盆栽试验(花盆规格:直径33.5 cm×高24.0 cm)。试验用土取自普通稻田粘性土,每盆装土8 kg,土壤N、P、K施肥量分别是N 0.125, P_2O_5 0.250, K_2O 0.143 $g \cdot kg^{-1}$ 。

大豆出苗后间苗,每盆保留长势良好一致的幼苗5株。在第三片复叶展平后,参照曹春信的方法^[8]用不同pH(2.5, 3.5, 4.5, 5.6)的模拟酸雨溶液喷施,以pH5.6为对照(CK)。参考南京市近10年年平均酸雨量和酸雨发生的频率,喷施频率约10 d 1次,每次的喷施量相当于10 mm降雨量,共5次酸雨处理,第0次为基础值(即尚未酸雨处理,第1次酸雨处理前取样),第1、2次喷施处于大豆苗期,第3、4、5次喷施处于大豆开花期。

1.3 测定项目与方法

每次酸雨处理后24 h取样测定叶片抗氧化生理指标。超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用NBT法^[9];过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[9];超氧阴离子(O_2^-)的产生速率采用羟胺法测定^[10];过氧化氢(H_2O_2)含量用南京建成提供的试剂盒测定;抗坏血酸含量测定参照汤章程的方法^[11],谷胱甘肽含量的测定参照Guri的方法^[12],丙二醛(MDA)含量测定采用赵世杰等^[13]的方法。大

豆成熟后,单株收获测产。

1.4 数据分析

采用Excel 2007处理试验数据,采用SPSS 18.0进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 模拟酸雨对大豆叶片活性氧水平的影响

由图1可看出,随着生长发育的进行,2个品种 O_2^- 产生速率的趋势存在较大差异。其中酸雨处理对南农1138-2 O_2^- 产生速率影响不显著;而在科丰1号中,pH ≥ 3.5 酸雨处理对 O_2^- 产生速率无显著影响,而pH2.5酸雨处理后, O_2^- 产生速率在第3次处理时达到最高后下降,且在整个处理期间均显著高于对照。

随着酸雨处理次数的增加,2个品种 H_2O_2 含量呈现不同的变化趋势,南农1138-2表现为先上升后下降再上升,而科丰1号则表现为先上升后下降的单峰曲线,并在第3次处理时达峰值。不同酸度酸雨胁迫对2个品种的影响亦存在差异,南农1138-2 pH4.5酸雨处理 H_2O_2 含量低于对照,pH3.5、pH2.5处理均高于对照,且pH2.5处理与对照差异达显著水平。而科丰1号则是pH2.5处理 H_2O_2 含量显著高于对照,pH ≥ 3.5 处理低于对照,但差异不显著。

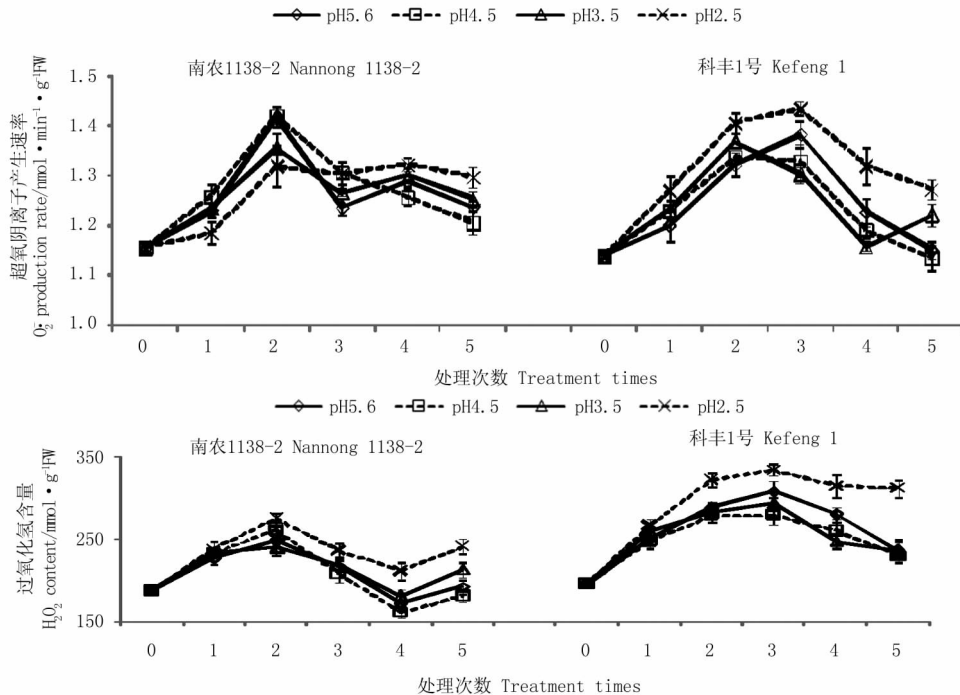


图1 模拟酸雨对南农1138-2和科丰1号叶片 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量的影响

Fig.1 Effects of SAR on O_2^- production rate and H_2O_2 content of soybean leaves on Nannong 1138-2 and Kefeng 1

2.2 模拟酸雨对大豆叶片抗氧化酶活性的影响

由图2可看出,2个品种间SOD的变化存在较大差异,其中南农1138-2 pH ≥ 3.5 处理下SOD活性

均在胁迫第3次时达到最低值,但影响不显著;pH2.5处理前两次SOD活性较其他处理低,而后期处理则较其他处理高,至第5次处理较CK增加了

15.00%, 差异达显著水平。科丰 1 号各处理 SOD 活性则均于第 3 次处理达峰值, 且酸雨酸度越大则 SOD 活性越大, 但 pH3.5 和 pH4.5 处理与对照差异不显著, pH2.5 处理显著大于对照。

随着生育进程的推进, 2 个品种 POD 活性均呈

上升趋势, 其中南农 1138-2 酸雨处理后 POD 活性均高于 CK, 至第 4 次处理后差异显著; 科丰 1 号 pH4.5、pH3.5 处理对 POD 活性影响不显著, pH2.5 处理则显著增加 POD 活性, 且增幅大于南农 1138-2。

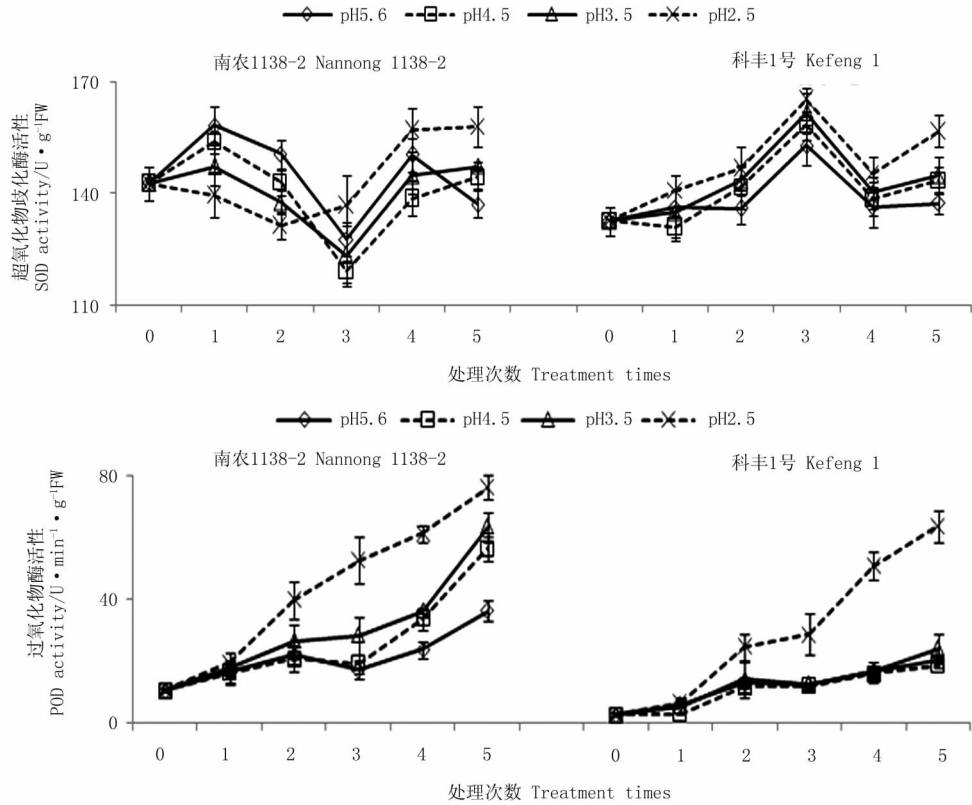


图 2 模拟酸雨对南农 1138-2 和科丰 1 号叶片 SOD 和 POD 活性的影响

Fig. 2 Effects of SAR on SOD and POD activity of soybean leaves on Nannong 1138-2 and Kefeng 1

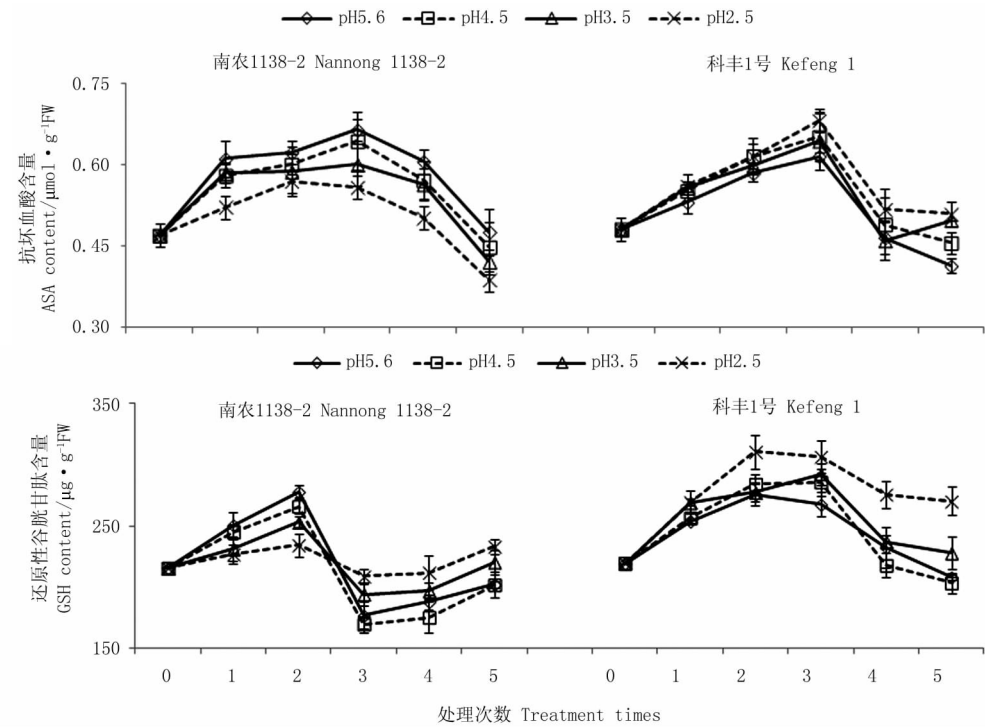


图 3 模拟酸雨对南农 1138-2 和科丰 1 号叶片 ASA 和 GSH 含量的影响

Fig. 3 Effects of SAR on ASA and GSH content of soybean leaves on Nannong 1138-2 and Kefeng 1

2.3 模拟酸雨对大豆叶片抗氧化剂含量的影响

由图 3 看出,随着处理次数的增加,2 个品种抗坏血酸(ASA)含量均呈先升高后降低的趋势,且均在第 3 次处理达峰值。酸雨处理后,2 个品种间存在较大差异,其中南农 1138-2 随着酸雨酸度的增加,ASA 含量降低,科丰 1 号则相反,但差异均不显著。2 个品种的还原性谷胱甘肽(GSH)含量也存在较大差异,酸雨处理对南农 1138-2 影响不显著;对

于科丰 1 号,pH \geq 3.5 处理无显著影响,pH2.5 处理则与对照差异达显著水平。

2.4 模拟酸雨对大豆叶片膜脂过氧化程度的影响

从图 4 可看出,随着生育进程的推进,2 个品种叶片中 MDA 含量均呈持续增加趋势,科丰 1 号增加幅度较小。2 个品种 pH \geq 3.5 处理的 MDA 含量均低于 CK,但差异不显著;pH2.5 处理均显著高于对照,科丰 1 号增幅大于南农 1138-2。

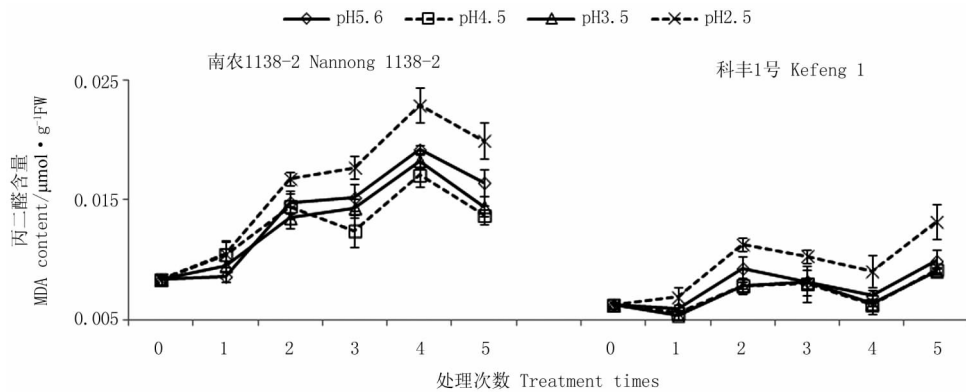


图 4 模拟酸雨对南农 1138-2 和科丰 1 号叶片 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effects of SAR on MDA content of soybean leaves on Nannong 1138-2 and Kefeng 1

2.5 模拟酸雨对大豆产量的影响

由表 1 可以看出,酸雨对 2 个品种单株产量的影响存在差异,随着酸雨 pH 的降低,南农 1138-2 的产量呈递减趋势,而科丰 1 号则呈先增后减的趋势,其中 pH4.5 和 pH3.5 处理下,科丰 1 号分别增产 11.4% 和 9.2%。至 pH2.5 时,2 个品种产量均显著低于对照,分别减产 23.5% 和 29.1%。

表 1 模拟酸雨对大豆单株产量的影响

Table 1 Effects of SAR on yield per plant of soybean

pH	南农 1138-2 Nannong 1138-2	科丰 1 号 Kefeng 1
5.6 (CK)	17.58 a	9.92 b
4.5	17.46 a	11.05 a
3.5	16.44 a	10.83 a
2.5	13.44 b	7.03 c

同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters in the same column indicated significant difference among treatments at 0.05 level.

3 结论与讨论

在酸雨胁迫的条件下,植物的活性氧水平、抗氧化酶活性和非酶抗氧化剂含量均在一定程度上受到影响^[14-16]。不同酸度酸雨对植物的影响不同,酸雨胁迫程度较轻时,植物可通过自身抗氧化系统

的调节来解除酸雨胁迫带来的伤害^[17]。本研究得出,中度酸雨 (pH \geq 3.5) 处理,对活性氧水平,抗氧化酶、非酶系统和 MDA 含量影响不显著,且不受生育时期的影响,均保持比较稳定的状态。

酸雨酸度较大,胁迫较严重时,会破坏活性氧产生和抗氧化系统清除的动态平衡,导致活性氧大量累积,加剧膜脂过氧化程度,破坏细胞膜结构,最终对叶片造成伤害^[18-20]。本研究中,强酸雨 (pH2.5) 胁迫后,活性氧水平显著上升,抗氧化系统紊乱,MDA 含量增加,导致细胞膜脂过氧化作用^[22]。强酸雨 (pH2.5) 胁迫下,2 品种抗氧化系统的响应存在差异。南农 1138-2 的活性氧水平增幅小于科丰 1 号,且发现南农 1138-2 苗期处理 O_2^- 产生速率较低,花期处理则显著升高,且 SOD 活性及 ASA 含量的变化趋势与之相一致;而科丰 1 号的活性氧水平、抗氧化酶和非酶系统中,除 POD 活性外,均呈先升后降的趋势,且均在初花期前后第一次处理时达到峰值,这些差异可能源于基因型的差异,也可能与处理次数和生育时期相关。强酸雨 (pH2.5) 胁迫下,2 个品种 POD 活性均显著增加,而使 H_2O_2 保持较为平衡的态势,说明高活性 POD 在酸雨胁迫下起到了清除 H_2O_2 的作用。活性氧水平的升高会直接导致丙二醛 (MDA) 的过量产生^[23],加剧膜脂过氧化。本研究中,强酸雨 (pH2.5) 胁迫后,科丰 1 号膜脂过氧化程度大于南农 1138-2,

说明受强酸雨胁迫后,科丰 1 号抗氧化系统受伤害程度大于南农 1138-2。

酸雨对不同品种大豆叶片抗氧化系统的影响,最终可通过产量反映^[8],本研究得出由酸雨胁迫对 2 个品种的产量影响存在差异。 $\text{pH} \geq 3.5$ 时,南农 1138-2 产量随 pH 降低而减产但差异不显著,而科丰 1 号的产量则显著增加,说明在中等酸雨下一些大豆品种会表现为营养效应^[24]。强酸雨 ($\text{pH} 2.5$) 胁迫后,2 个品种产量均显著降低,表现为伤害效应,且科丰 1 号降幅大于南农 1138-2,这是因为科丰 1 号抗氧化系统受伤害程度大于南农 1138-2。

综上所述,酸雨对不同基因型大豆的影响不同。中度酸雨 ($\text{pH} \geq 3.5$) 处理对大豆大部分抗氧化指标影响不显著,伤害较小,表现为南农 1138-2 略有减产;甚至表现为营养效应,科丰 1 号显著增产。强酸雨 ($\text{pH} 2.5$) 胁迫后,活性氧水平升高,活性氧产生与清除的代谢系统平衡被破坏,丙二醛含量增加,膜脂过氧化加剧,且随处理次数增加伤害愈加明显,产量降低显著,科丰 1 号受害程度大于南农 1138-2。

参考文献

- [1] 张耀民,吴丽英,王晓霞,等. 酸雨对农作物的叶片伤害及生理特性的影响[J]. 农业环境保护,1996,15(5):197-208,227. (Zhang Y M, Wu L Y, Wang X X, et al. Effects of acid rain on leaf injury and physiological characteristics of crops[J]. Journal of Agro-Environment, 1996, 15(5):197-208, 227.)
- [2] 冯颖竹,陈惠阳,余土元,等. 中国酸雨及其对农业生产影响的研究进展[J]. 中国农学通报,2012,28(11):306-311. (Feng Y Z, Chen H Y, Yu T Y, et al. Research progress on acid deposition over China and effect of acid rain on agricultural production[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(11):306-311.)
- [3] 严重玲,洪业汤,王世杰,等. 稀土元素对酸雨胁迫小麦活性氧清除系统响应的作用[J]. 作物学报,1999,25(4):504-507. (Yan Z L, Hong Y T, Wang S J, et al. Effect of rare earth elements on the response of the activated oxygen scavenging system in leaves of wheat[J]. Acta Agronomica Sinica, 1999, 25(4):504-507.)
- [4] 梁骏,麦博儒,郑有飞,等. 模拟酸雨对油菜(*Brassica napus* L.) 生长、产量及品质的影响[J]. 生态学报,2008,28(1):274-283. (Liang J, Mai B R, Zheng Y F, et al. Effects of simulated acid rain on the growth, yield and quality of rape[J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1):274-283.)
- [5] Yu J, Ye S, Huang L. Effects of simulated acid precipitation on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzymes in *Cucumis sativus* L. [J]. Photosynthetica, 2002, 40(3):331-335.
- [6] 张新民,柴发合,王淑兰,等. 中国酸雨研究现状[J]. 环境科学研究,2010,23(5):527-532. (Zhang X M, Chai F H, Wang S L, et al. Research progress of acid precipitation in China[J]. Research of Environmental Sciences, 2010, 23(5):527-532.)
- [7] 麦博儒. 模拟酸雨对农作物生长发育、产量及营养品质的影响[D]. 南京:南京信息工程大学,2008. (Mai B R. Effects of simulated acid rain on the growth, yield and quality of crops[D]. Nanjing: Nanjing University of Information Science & Technology, 2008.)
- [8] 曹春信,周琴,韩亮亮,等. 模拟酸雨对油菜花期生理特性和产量的影响[J]. 应用生态学报,2010,21(8):2057-2062. (Cao C X, Zhou Q, Han L L, et al. Effects of simulated acid rain on oilseed rape (*Brassica napus*) physiological characteristics at flowering stage and yield[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(8):2057-2062.)
- [9] 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,2000:134-138. (Li H S. Plant physiological and biochemical principles and techniques [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:134-138.)
- [10] 王爱国,罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯,1990,26(6):55-57. (Wang A G, Luo G H. The quantitative relationship between superoxide radical reaction and hydroxylamine in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1990, 26(6):55-57.)
- [11] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学技术出版社,1999:315-316. (Tang Z C. Modern plant physiology laboratory manual [M]. Beijing: Science and Technology Press, 1999:315-316.)
- [12] Guri A. Variation in glutathione and ascorbic acid content among selected cultivars of *Phaseolus vulgaris* prior to and after exposure to ozone[J]. Canadian Journal of Plant Science, 1983, 63:733-737.
- [13] 赵世杰,许长成. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):207-210. (Zhao S J, Xu C C. Improvement of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues [J]. Plant Physiology Communications, 1994, 30(3):207-210.)
- [14] Bolwell G P, Bindschedler L V, Blee K A, et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: A three-component system [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 372:1367-1376.
- [15] Schopfer P, Plachy C, Frahry G. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid[J]. Plant Physiology, 2001, 125:1591-1602.
- [16] 孙业民,马兰,李朝周,等. 不同类型酸胁迫对云杉叶细胞膜及其保护系统损伤机制的比较[J]. 林业科学,2012,48(6):56-62. (Sun Y M, Ma L, Li Z Z, et al. Comparison on the damage mechanism of cell membrane and its protective systems in *Picea asperata* leaves under different acid stress types[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2012, 48(6):56-62.)
- [17] Suhayda C G, Hang A. Organic acids reduce aluminum toxicity in maize root membranes[J]. Plant Physiology, 1986, 68:189-195.

(下转第 57 页)