

PEG 模拟干旱胁迫下不同类型大豆的生理生化响应

王林红¹, 乔 潇², 乔亚科¹, 王 迪¹, 杨晓倩¹, 刘晨光¹, 段鹏博¹, 李桂兰¹

(1. 河北科技师范学院 生命科技学院, 河北 昌黎 066600; 2. 河北科技师范学院 物理系, 河北 秦皇岛 066004)

摘要:以7份抗旱性存在差异的野生大豆和栽培大豆为材料, 苗期用20% PEG₆₀₀₀进行模拟干旱胁迫处理, 测定处理1~6 d的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性和游离脯氨酸(Pro)、可溶性糖(WSS)、叶绿素和丙二醛(MDA)含量的变化情况。结果表明:在干旱胁迫下,不同材料大豆SOD和POD活性均呈先升后降的趋势;Pro、WSS和MDA含量呈持续上升的趋势;叶绿素含量在胁迫后1~2 d增加。野生大豆与栽培大豆比较,SOD和POD对干旱胁迫的响应速度较快;叶绿素含量变化较为平缓;MDA含量增幅较小。

关键词:大豆;干旱胁迫;生理生化指标;变化

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2014.03.0370

Physiological and Biochemical Responses of Different Soybeans under PEG Simulated Drought Stress

WANG Lin-hong¹, QIAO Xiao², QIAO Ya-ke¹, WANG Di¹, YANG Xiao-qian¹, LIU Chen-guang¹, Duan Peng-bo¹, LI Gui-lan¹

(1. Life Science and Technology College, Hebei Normal University of Science & Technology, Changli 066600, China; 2. Department of Physics, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao 066004, China)

Abstract: Seven soybeans with different drought resistance were used as materials in this study to research the variation of relevant drought-resistance indexes with drought stress time. The drought conditions were imitated with 20% PEG₆₀₀₀ at soybean seedling stage. Superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD) activities and free proline(Pro), soluble sugar(WSS), chlorophyll and malondialdehyde(MDA) contents were measured from the first day to sixth day after drought treatment. The results showed that with the increase of stress time, activities of SOD and POD rose at first and then descend. Contents of Pro, WSS and MDA appeared rise continually. Meanwhile, chlorophyll contents increased in the first day to second day. The response speed of SOD and POD of wild soybeans to drought stress was significantly faster than cultivated soybeans. Chlorophyll content of wild soybeans changed relatively gently, while the variation of cultivated soybeans was drastic. MDA content of wild soybeans grew much less than cultivated varieties during the whole drought stress treatment.

Key words: Soybean; Drought stress; Physiological and biochemical indexes; Variation

干旱一直是人类面临的主要自然灾害之一,全世界干旱和半干旱地区的总面积约占陆地面积的34.9%,随着人类的经济发展和人口膨胀,水资源短缺现象日趋严重,干旱化趋势已成为全球关注的问题。大豆是需水较多的作物,对土壤缺水极其敏感,干旱对大豆产量和品质都造成严重影响^[1]。在干旱条件下,大豆的许多生理指标都会发生变化,诸多研究认为叶片相对含水量、相对电导率、渗透势、叶绿素含量、脯氨酸含量、叶片保护酶活性和膜脂过氧化作用等指标均与大豆的抗旱性有关^[2-7],本试验应用PEG₆₀₀₀模拟干旱胁迫,探讨野生大豆和栽培大豆在干旱胁迫不同时间相关生理生化响应的变化,以期寻找各个生理生化指标干旱响应关键时期,为大豆种质资源的抗旱性鉴定、大豆抗旱品种的选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以经过抗旱性鉴定的7份大豆资源为材料^[4]。3份野生大豆:永26、永46和永52(采自河北省昌黎沿海地区);4份栽培大豆:秦皇小粒10号和品系12(本实验室培育),冀豆12(河北省农林科学院粮油作物所),中黄13(中国农业科学院作物所)。

1.2 试验设计

试验于2013年6月在河北科技师范学院进行,采用盆栽试验方法。在直径为8 cm的营养钵中装入自来水冲洗干净的细湿沙,摆放在长×宽×高为46.5 cm×35.0 cm×13.5 cm的塑料方盆中,共7盆,每盆20个营养钵,选取饱满无病害的大豆种子播种于营养钵中,每份材料播20钵,每钵6粒,并使

收稿日期:2013-11-25

基金项目:转基因生物新品种培育科技重大专项(2014ZX08004-004B);河北省科技支撑计划(11220107D);河北省自然科学基金(C2014407051)。

第一作者简介:王林红(1986-),女,在读硕士,主要从事植物分子生物学研究。E-mail:my2011dreams@163.com。

通讯作者:李桂兰(1963-),女,教授,主要从事植物分子生物学与野生大豆遗传资源研究。E-mail:lg63@126.com。

7 份材料在盆中随机排列,播种后覆盖约 1 cm 厚的湿沙。每天浇水保证其正常出芽,于出苗期间苗保留 3 株长势一致的幼苗,并每隔 3 d 每钵浇 50 mL Hoagland's 营养液,其余时间每天每钵浇 50 mL 水。在出苗后第 30 天,每份材料取 10 钵浇等量 20% PEG₆₀₀₀ 进行干旱处理,正常浇水作为对照,连续干旱胁迫 6 d。在胁迫处理后的 1~6 d 每天 10:00 剪取第 3~4 展开复叶置于冰盒中并立即测定各项生理指标。

1.3 测定项目与方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原比色法^[8]测定,以抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个酶活性单位;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[9],以每分钟 A₄₇₀ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位;游离脯氨酸(Pro)含量测定采用酸性茚三酮法^[8];可溶性糖(WSS)含量测定采用蒽酮比色法^[10];叶绿素含量测定采用 80% 丙酮比色法^[8];丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法^[8]。

1.4 数据处理与分析

所有数据均采用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 软件进行作图和分析。

2 结果与分析

2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

在干旱胁迫下,不同大豆品种 SOD 活性均表现增加,随着胁迫天数的增加,SOD 活性呈先升后降的趋势(图 1a)。各份材料通过 SOD 活性响应干旱的时期并不同步,野生大豆材料 SOD 活性对干旱胁迫

的响应比栽培大豆迅速。野生大豆在胁迫 1 d 后增幅为 0.88%~5.38%,2~5 d 均保持在较高水平,增幅最大达到 36.30%,此后开始下降,但含量仍高于栽培品种;栽培品种中,秦皇小粒 10 号和品系 12 在 2 d SOD 活性迅速达到最大值,增幅分别为 22.15% 和 30.39%,第 3 天开始迅速降低,4~6 d 趋于稳定;冀豆 12 和中黄 13 在胁迫前 2 d 与对照无差异,第 4 天增幅达到最大,分别为 27.27% 和 28.46%,之后急剧下降。

2.2 过氧化物酶(POD)活性的变化

在一定的干旱胁迫下,大豆 POD 活性增加,随着干旱胁迫天数的增加,POD 活性也呈先升后降的趋势。各份材料在第 4 天达到最大值,且增幅最大;第 5 天则急剧下降,第 6 天低于对照;其中栽培品种秦皇小粒 10 号例外,在第 3 天达到最大(图 1b)。野生大豆材料在第 1 天 POD 活性增幅显著大于栽培品种,从胁迫后 1~4 d 急剧增加,第 4 天达到最大,最大增幅为 130.58%,此后开始迅速下降,至第 6 天低于对照,降幅为 14.24%~22.21%。栽培大豆秦皇小粒 10 号和品系 12 从第 2 天开始与野生大豆的变幅接近;冀豆 12 和中黄 13 第 1~4 天的增幅均小于其他品种,且 1~2 d 变化不大,从第 5 天开始 POD 活性低于对照,并且下降幅度高于其他材料,降幅为 16.08%~29.67%。

研究结果表明野生大豆材料 POD 对干旱胁迫的响应速度明显快于栽培大豆,其中秦皇小粒 10 号和品系 12 是通过野生大豆与栽培大豆杂交选育的品种,可能是导致 POD 活性变化接近野生大豆的原因。野生大豆幼苗 POD 对 PEG 干旱胁迫的响应在

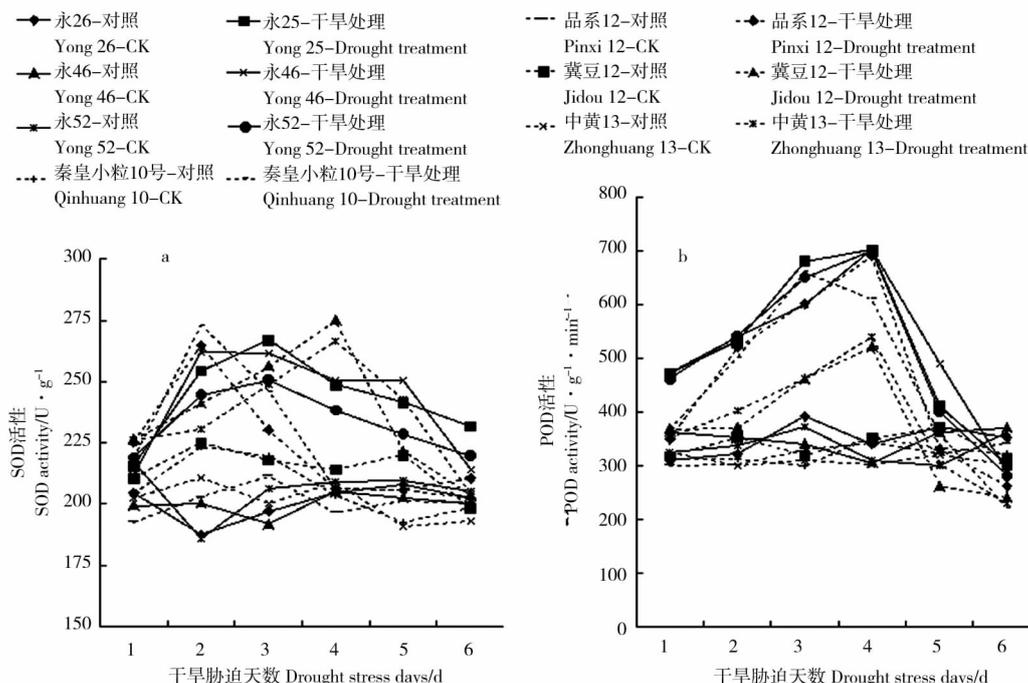


图 1 干旱胁迫对不同品种大豆幼苗 SOD(a) 和 POD(b) 活性的影响(图例下图均同)

Fig. 1 Effect of drought stress on activities of SOD(a) and POD(b) in soybean leaves

(The legend the same below)

干旱胁迫后1~4 d,栽培大豆则在3~4 d,5 d以后随干旱胁迫时间的延长,危害加重致使大豆的代谢机能下降,导致POD活性低于对照。

2.3 游离脯氨酸(Pro)含量的变化

游离脯氨酸含量在大豆幼苗干旱胁迫后持续积累,野生大豆与栽培大豆游离脯氨酸的积累变化存在差异。野生大豆材料1~4 d增加缓慢,并且各材料之间无差异,5~6 d表现为快速增加,各材料间差异显著,在第6天达到最大值,增幅均达到9倍以上。栽培大豆品系12、冀豆12和中黄13在3~5 d表现为快速增加,第5天积累量达到最大,品系12积累量最高,其增幅最大达到24倍,第6天积累量下降(图2a)。根据干旱胁迫后游离脯氨酸含量的变化,在干旱胁迫后5~6 d各份材料之间才表现出差异,因此在此期间测定为宜。

2.4 可溶性糖(WSS)含量的变化

干旱胁迫下,大豆叶片中可溶性糖含量增加,随着干旱胁迫时间的延长,大豆材料可溶性糖含量呈现持续上升趋势(图2b)。野生大豆材料在胁迫后1~6 d中可溶性糖含量增幅为6.62%~

188.03%。栽培品种秦皇小粒10号、冀豆12和中黄13增幅为9.57%~159.18%,而品系12增幅最大达到2.5倍。

2.5 叶绿素含量的变化

整个干旱胁迫期间野生大豆材料叶绿素含量变化较为平缓,均高于对照,变化趋势表现为先升高再降低再升高,出现一个低谷,在第1~2天明显高于对照,增幅为15.18%~37.62%;第3~4天持续下降,增幅为0.76%~28.27%;此后缓慢上升,到第6天基本不再升高,增幅为10.43%~34.94%。胁迫后的栽培大豆叶绿素含量变化比较剧烈,干旱胁迫后1~2 d明显高于对照,增幅为27.02%~51.21%,在第3或4天跌至最低且低于对照,降幅为10.01%~33.27%,而后的1 d急剧上升,之后再再次急剧下降(图2c)。

2.6 丙二醛(MDA)含量的变化

研究表明:干旱胁迫造成大豆叶片的丙二醛含量增加,干旱处理后1 d其积累不明显,2 d积累量显著增加且含量持续上升。在干旱胁迫的1~6 d,野生大豆材料丙二醛含量增幅为14.53%~

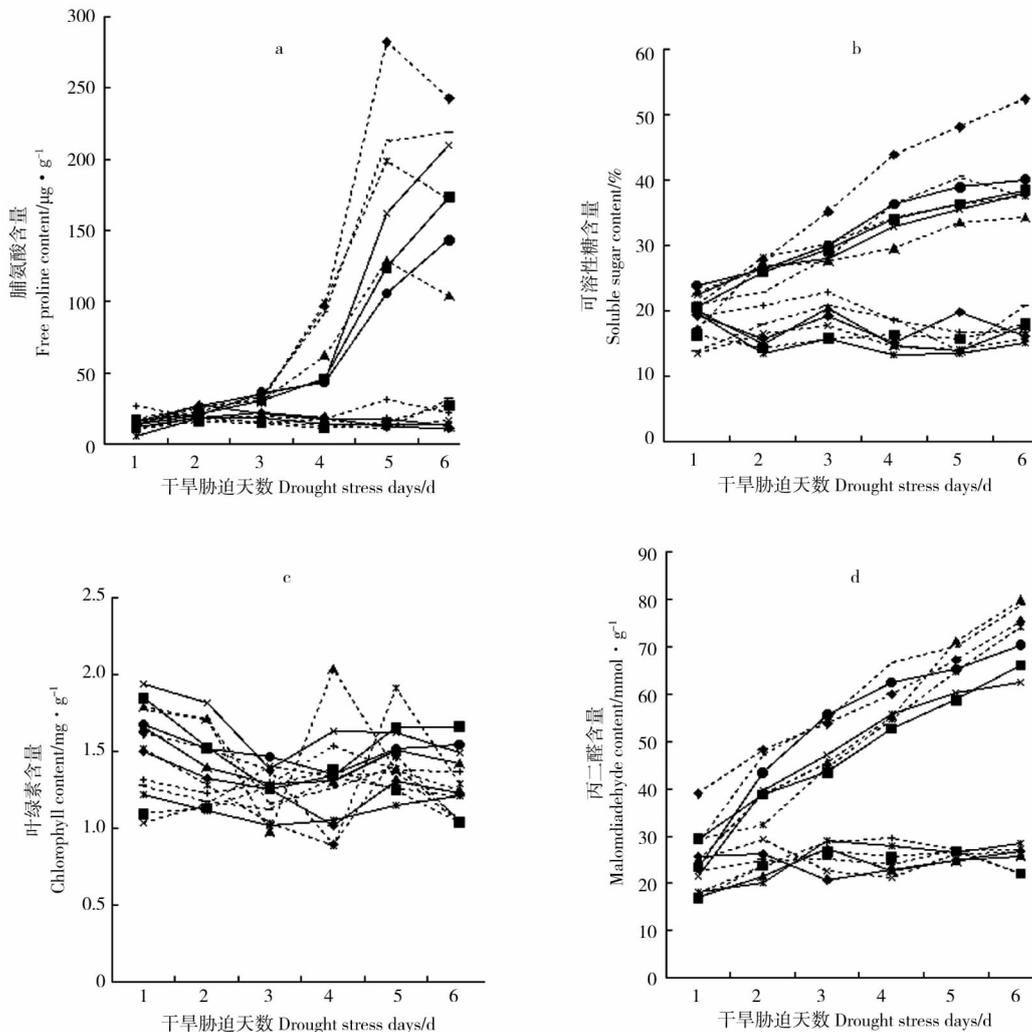


图2 干旱胁迫对不同品种大豆幼苗Pro(a)、WSS(b)、叶绿素(c)和MDA(d)含量的影响
Fig.2 Effect of drought stress on contents of free proline(a), soluble sugar(b), chlorophyll(c) and malondialdehyde(d) in soybean leaves

145.42%,栽培品种增幅为 17.62%~261.51%。野生大豆材料在整个干旱胁迫期间丙二醛含量增幅均小于栽培品种,特别是随着干旱胁迫时间的延长,在胁迫后 6 d 时其增幅显著小于栽培品种(图 2d)。

3 结论与讨论

在干旱胁迫下,植物体内的活性氧大量积累,干旱胁迫应激产生抗氧化作用的酶可以清除自由基,减轻细胞膜伤害,增强品种抗旱能力^[11]。随着胁迫天数的增加,SOD 和 POD 活性呈先升后降的趋势^[3-4]。本研究表明,野生大豆材料 SOD 和 POD 对干旱响应较栽培品种迅速,且活性也高,说明野生大豆能及时产生较多保护酶,抵抗干旱带来的伤害。

大豆幼苗 Pro 和 WSS 含量随着胁迫时间的延长逐渐积累^[6],Pro 和 WSS 作为渗透调节物质来维持水势。本研究表明 Pro 和 WSS 含量对干旱的响应速度有差异,Pro 在干旱胁迫前期积累较少,主要在后期积累较多来发挥渗透调节作用抵御干旱;而 WSS 在干旱胁迫前期就已经积累,呈线性持续增加趋势。

干旱胁迫会抑制大豆的光合作用,造成植物光合器官的破坏^[7]。本研究中栽培大豆叶绿素含量变化趋势为先降低再升高再降低,与高蕾等^[12]的研究结果相似。野生大豆叶绿素含量变化较为平缓,且在干旱胁迫期间均较对照增加,说明野生大豆有更完善的抵抗干旱胁迫损伤叶绿素的体系。

MDA 是细胞膜脂过氧化作用的产物,体现植物对逆境条件反应的强弱^[13]。楼靓珺等^[6]、焦健等^[14]和闫美玲等^[15]研究表明 MDA 含量随干旱时间的延长而增加,本研究表现出相似的结果。马光等^[5]研究认为干旱胁迫条件下,野生大豆 MDA 的绝对积累量和积累增加速度均小于栽培大豆,本试验中野生大豆在干旱胁迫 1~6 d MDA 含量增幅均小于栽培品种,并且随着干旱胁迫时间的延长二者增幅差距增大,表明干旱胁迫下野生大豆抗细胞膜脂过氧化作用的能力更强。

本研究发现,不同大豆材料的不同生理生化指标随干旱胁迫时间的变化趋势和幅度存在差异,各指标达到最大值以及各材料之间达到差异最大的时间不同,因此抗旱鉴定时,不同生理生化指标应在不同的胁迫时间测定。在本试验条件范围内,SOD 和 POD 活性分别以干旱胁迫后 2~4 d、5~6 d 测定为宜;Pro、WSS 和 MDA 含量等具有持续积累的指标则以干旱胁迫时间持续到 5~6 d 时测定为宜;叶绿素含量应以胁迫后第 6 天测定为宜,以充分体现不同材料对干旱胁迫的适应能力。

参考文献

[1] 任海洋,童淑媛,杜维广,等. 结荚鼓粒期土壤水分胁迫对不同大豆品种形态和生理特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2011,33(4):362-367. (Ren H X, Tong S Y, Du W G. Effects of soil water stress during seed formation stage on morphological and physiological characteristics in various soybean varieties[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(4): 362-367.)

[2] 蒲伟凤,李桂兰,张敏,等. 干旱胁迫对野生和栽培大豆根系特征及生理指标的影响[J]. 大豆科学, 2010, 29(4): 615-622. (Pu W F, Li G L, Zhang M, et al. Effects of drought stress on root characteristics and physiological indexes of *Glycine soja* and *Glycine max*[J]. Soybean Science, 2010, 29(4): 615-622.)

[3] 王启明. 干旱胁迫对大豆苗期叶片保护酶活性和膜脂过氧化作用的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(4): 918-921. (Wang Q M. Effects of drought stress on protective enzymes activities and membrane lipid peroxidation in leaves of soybean seedlings[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(4): 918-921.)

[4] 莫红,摘星礼. 干旱胁迫对大豆苗期生理生化特征的影响[J]. 湖北农业科学, 2007, 46(1): 45-48. (Mo H, Zhai X L. Effects of drought stress on physiological and biochemical characteristics of soybean seedlings[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2007, 46(1): 45-48.)

[5] 马光,郭继平,魏淑珍,等. 干旱胁迫下野生大豆和栽培大豆生理特性比较[J]. 大豆科学, 2011, 30(6): 1057-1059. (Ma G, Guo J P, Wei S Z, et al. Comparison of physiological characteristics of *Glycine soja* and *Glycine max* under drought stress[J]. Soybean Science, 2011, 30(6): 1057-1059.)

[6] 楼靓珺,宋新山,赵晓祥. 苗期大豆对土壤水分和空气湿度变化的生理生化响应[J]. 草业科学, 2013, 30(6): 898-903. (Lou L J, Song X S, Zhao X X. Response of physiology and biochemistry of soybean seedling to soil water deficit and air humidity[J]. Pratacultural Science, 2013, 30(6): 898-903.)

[7] 杨如萍,包振贤,陈光荣,等. 大豆抗旱性研究进展[J]. 作物杂志, 2012: 8-12. (Yang R P, Bao Z X, Chen G R, et al. The research progress in drought resistance of soybean[J]. Crops, 2012: 8-12.)

[8] 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, 2001. (Li H S. Plant physiology and biochemistry experiment: principle and technology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001.)

[9] 张宪政,陈凤玉,王荣富. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994. (Zhang X Z, Chen F Y, Wang R F. Plant physiology experimental technology[M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1994.)

[10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. (Gao J F. Experimental manual of plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.)

[11] 谢晨,谢皓,陈学珍. 大豆抗旱形态和生理生化指标研究进展[J]. 北京农学院学报, 2008, 23(4): 74-76. (Xie C, Xie H, Chen X Z. Advance on the morphologic characteristic and physiological index in the drought-resistance soybean[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2008, 23(4): 74-76.)

[12] 高蕾,刘丽君,董守坤,等. 干旱胁迫对大豆幼苗叶片生理生化特性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(8): 1-4. (Gao L, Liu L J, Dong S K, et al. Effect of drought stress on physiological and biochemical characteristics in leaves of soybean seedlings[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2009, 40(8): 1-4.)

[13] 刘俊,廖柏寒,周航,等. 镉胁迫对大豆花荚期生理生态的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(1): 176-182. (Liu J, Liao B H, Zhou H, et al. Effects of Cd²⁺ on the physiological and biochemical properties of *Glycine max* in flowering-podding phase[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2009, 18(1): 176-182.)

[14] 焦健,李朝周,黄高宝. 钴对干旱胁迫下大豆幼苗叶片的保护作用及其机理[J]. 应用生态学报, 2006, 17(5): 796-800. (Jiao J, Li C Z, Huang G B. Protective effects and their mechanisms of cobalt on soybean seedling's leaf under drought stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(5): 796-800.)

[15] 闫美玲,李向东,林英杰,等. 苗期干旱胁迫对不同抗旱花生品种生理特性、产量和品质的影响[J]. 作物学报, 2007, 33(1): 113-119. (Yan M L, Li X D, Lin Y J, et al. Effects of drought during seedling stage on physiological traits, yield and quality of different peanut cultivars[J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(1): 113-119.)