

干旱胁迫对大豆种子萌发的影响

莫金钢^{1,2}, 马建¹, 张丽辉², 王丕武¹

(1. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 2. 长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130032)

摘要:为了考察干旱胁迫对大豆种子萌发的影响,以聚乙二醇(PEG-6000)作为渗透剂模拟干旱胁迫,研究了在6种不同浓度(0.5%、10%、15%、20%、25%)PEG渗透胁迫下大豆吉农18(JN18)及其根系突变体(M18)种子萌发的特征和幼苗生长的状况。结果表明:干旱胁迫对大豆种子萌发和幼苗生长均有较强的抑制作用,JN18和M18的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均随着PEG处理浓度增加呈下降趋势,且在20%PEG处理下,M18的发芽率、发芽指数和活力指数显著高于JN18($P < 0.05$);JN18和M18长势均与PEG浓度呈负相关,且二者在15%PEG处理下的根系性状存在极显著差异($P < 0.01$),同时,二者胚芽长差异显著($P < 0.05$)。初步认定M18较JN18具有更强的耐旱性。

关键词:大豆;根系突变体;干旱胁迫;萌发;耐旱性

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2014.05.0701

Effect of Drought Stress on Germination of Soybean

MO Jin-gang^{1,2}, MA Jian¹, ZHANG Li-hui², WANG Pi-wu¹

(1. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. College of Life Science, Changchun Normal University, Changchun 130032, China)

Abstract: To evaluate the effects of drought stress on seed germination and seedling growth of soybean, drought stress simulated by different concentrations of polyethylene glycol (PEG-6000), 0.5%, 10%, 15%, 20% and 25% of PEG-6000 were applied at soybean germination stage as drought stress conditions, and the germination rate, germination potential, germination index, vigor index, taproot length, number of lateral roots, total length of lateral roots and plumule length of JN18 and its root mutant M18 were analyzed, taking JN18, a wild-type line as control. The results showed that seed germination and seedling growth of soybean were significantly inhibited by drought stress in this experiment. With the strengthening of drought stress, seeds germination rate, germination index and vigor index were significantly reduced, taproot length, total length of lateral roots and plumule length of the seedlings were shortened, the number of lateral roots, root weight, lateral root weight and plumule weight were decreased. The results showed that M18 had higher seeds germination rate, germination index and vigor index under the same PEG treatment. M18 also showed a strong growth advantage under the same drought stress. Many indices of M18 were higher than JN18, including taproot length, number of lateral roots, plumule length etc.. It was suggested that the ability of drought resistance of M18 was more superior than JN18.

Key words: Soybean; Root mutant; Drought stress; Germination; Drought resistance

大豆(*Glycine max* L. Merr.)是重要的粮食和油料作物,不仅是人类食用蛋白和油脂的主要来源,也是工业原料的重要来源^[1]。大豆根系不发达且在生长发育过程中需水量高,是豆科植物中对干旱最为敏感的作物之一^[2]。随着世界水资源的短缺,作物生产常常受到干旱胁迫的影响,选育抗旱品种是降低干旱对作物影响的有效途径。大豆吉农18(JN18)经干旱胁迫诱导后获得一突变体,其后代经连续6代筛选而获得了一遗传性状稳定的突变系(M18),主要表现为根系较野生型发达。

种子萌发是植物生活史中极为关键的一环。干旱是影响种子萌发的主要逆境胁迫形式,同时也制约着植物的生长和植被的分布。种子萌发阶段是进行植物抗旱性研究的重要阶段^[3],可以对植物进行耐旱性早期鉴定。

本试验用聚乙二醇(PEG-6000)高渗溶液模拟

干旱胁迫条件,以野生型大豆JN18及其突变体M18的种子为材料,研究其在不同浓度渗透液胁迫下大豆种子的发芽特性,旨在比较JN18和M18抗旱性差异,以为大豆抗旱品种选育和旱作栽培应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验大豆材料为野生型吉农18(JN18)及其根系突变体(M18),均由吉林农业大学生物技术中心提供。

1.2 方法

根据重量/体积(W/V)配制浓度为0.5%、10%、15%、20%、25%的PEG溶液,其渗透势采用Michael和Kaufman^[4]有关浓度与渗透势的关系,即:渗透势 $\psi_s = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2$

收稿日期:2014-02-12

基金项目:吉林省科技厅重点科技支撑项目(20090203)。

第一作者简介:莫金钢(1979-),男,博士,实验师,主要从事生物技术在作物育种中的应用研究。E-mail:mojingang@163.com。

通讯作者:王丕武(1958-),男,博士,教授,主要从事生物技术与作物分子育种研究。E-mail:peiww@163.com。

$$+ (2.67 \times 10^{-4}) CT + (8.39 \times 10^{-7}) C^2 T$$

其中, ψ_s 为溶液的水势 (bar); C 为 PEG-6000 的质量分数 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), T 为温度常数, 为 25°C 。根据公式 $1 \text{ bar} = 0.1 \text{ MPa}$, 与之相对应的溶液水势约为 $0, -0.05, -0.15, -0.30, -0.50, -0.73 \text{ MPa}$ 。

发芽试验参考国家标准 GB/T 3543. 4-1995。种子经 0.1% 的 HgCl 消毒 15 min , 然后用蒸馏水冲洗干净, 用滤纸吸干附着水分备用。以长宽高为 $12 \text{ cm} \times 12 \text{ cm} \times 6 \text{ cm}$ 的种子发芽盒为培养容器, 发芽盒底部铺 3 层滤纸。分别选择大小一致、圆润饱满无虫害的大豆种子进行发芽, 每盒播 50 粒种子, 然后分别加入 25 mL 不同浓度的 PEG 溶液, 蒸馏水处理作为对照 (CK), 3 次重复。将发芽盒置入人工气候箱中, $25^\circ\text{C}/14 \text{ h}$ (光), $15^\circ\text{C}/10 \text{ h}$ (暗) 的条件培养, 每天向滤纸加相应浓度 PEG 溶液 10 mL , 并吸出多余溶液, 以浸透滤纸并稍有剩余为宜。以胚根突破种皮 1 mm 左右作为萌发标准, 第 2 天开始统计种子的发芽数, 共计数 10 d , 计数结束后, 每盒分别挑选 15 株具有代表性的幼苗, 测定其芽长、主根长、侧根数、侧根总长以及鲜重等, 并对未发芽的种子进行复水试验。

发芽率 (%) = 供试种子发芽粒数/供试种子总粒数 $\times 100$;

日相对发芽率 (%) = $n/\text{供试种子总粒数} \times 100$, 式中, 以置床之日为萌发第 0 天, n 为萌发相应各日的正常发芽粒数;

发芽势 (%) = 3 d 发芽种子数/供试种子总粒数 $\times 100$;

平均发芽速度 (GV) = $\sum (D \cdot n) / \sum n$, 式中, D 为从种子置床起算的天数, n 为相应各天的发芽粒数;

发芽指数 (GI) = $\sum (G_t/D_t)$, 式中, G_t 指在时间 t 日内的发芽数, D_t 为相应的发芽天数^[5];

活力指数 (VI) = $GI \times S$, 式中的 S 为幼苗鲜重。

1.3 数据分析

数据采用 SPSS 13.0 统计分析, Excel 2003 作图。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对大豆种子萌发的影响

由表 1 可知, JN18 和 M18 的种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数和平均发芽速度均随着 PEG 浓度的增加呈现下降的趋势, 且在相同程度的干旱胁迫条件下, M18 均高于 JN18。当 PEG 浓度 $\leq 15\%$ 时, 二者发芽率无明显差异, 当 PEG 浓度为 20% 时, M18 的发芽率比 JN18 高 30% , 差异显著 ($P < 0.05$); 发芽势在各处理中均无明显差异, 在 PEG 浓度为 15% 时, M18 的发芽势比 JN18 高 13.34% , 说明 M18 种子的生命力较 JN18 强; 当 PEG 浓度为 5% 、 10% 和 20% 时 JN18 和 M18 发芽指数和活力指数差异显著 ($P < 0.05$), 而在 15% PEG 处理时, 二者的发芽指数和活力指数差异均不显著, 推测在该浓度处理下两种大豆材料对干旱胁迫的敏感度有可能发生了转变。当 PEG 浓度达到 25% 时, 所有材料均未萌发, 种子发芽被完全抑制。

表 1 PEG 处理对大豆种子萌发的影响

Table 1 Effect of PEG treatment on seeds germination of *Glycine max*

PEG 质量浓度 PEG mass concentration/%	材料 Material	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	平均发芽速度 Germination speed
0 (CK)	JN18	100.00 \pm 0	99.33 \pm 0.67	25.64 \pm 0.39	24.87 \pm 0.38	2.03 \pm 0.02
	M18	100.00 \pm 0	100.00 \pm 0	26.06 \pm 0.40	26.86 \pm 0.41 *	1.97 \pm 0.01 *
5	JN18	99.33 \pm 0.67	98.67 \pm 1.33	24.31 \pm 0.10	17.89 \pm 0.07	2.07 \pm 0.02
	M18	100.00 \pm 0	99.33 \pm 0.67	24.97 \pm 0.21 *	19.63 \pm 0.17 **	2.02 \pm 0.02
10	JN18	99.33 \pm 0.67	98.67 \pm 0.67	23.53 \pm 0.25	13.36 \pm 0.14	2.16 \pm 0.02
	M18	100.00 \pm 0	100.00 \pm 0	25.00 \pm 0.42 *	15.30 \pm 0.26 **	2.03 \pm 0.02 *
15	JN18	99.33 \pm 0.67	73.33 \pm 5.93	16.76 \pm 0.75	7.19 \pm 0.32	3.12 \pm 0.10
	M18	100.00 \pm 0	86.67 \pm 3.71	18.17 \pm 0.17	7.88 \pm 0.08	2.89 \pm 0.04
20	JN18	52.67 \pm 6.36	0.67 \pm 0.67	3.28 \pm 0.48	1.12 \pm 0.16	8.41 \pm 0.29
	M18	82.67 \pm 1.33 *	0 \pm 0	5.47 \pm 0.24 *	1.95 \pm 0.08 *	7.82 \pm 0.23
25	JN18	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	M18	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

表中数据为平均值 \pm 标准误; * 表示显著差异 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

Values are Mean \pm SE; * and ** show significant difference at 5% and 1% level. The same below.

由表 1 还可以得知, 在相同浓度 PEG 处理下, M18 的平均发芽速度均高于 JN18, 表明 M18 种子发

芽能力高于 JN18。

不同浓度 PEG 处理对 JN18 和 M18 的日相对发

芽率的影响见图 1,由图 1 可知,干旱胁迫能延缓大豆种子的萌发进程,且随着干旱胁迫程度的增加,延缓作用随之增强。当 PEG 浓度 $\leq 10\%$ 时,两种大豆种子的日相对发芽率无明显区别,且置床的第 2 天发芽种子数都达到了最高峰。当 PEG 浓度为 15% 时,两者发芽种子数在第 3 天才达到高峰期,且 M18 的发芽率比 JN18 高 4.67%;在 20% PEG 处理

下,M18 的种子发芽数高峰期为第 8 天,比 JN18 发芽率高 18.67%,且较 JN18 的发芽高峰期提前 1 d,表明 M18 在重度干旱条件下比 JN18 更容易发芽,而且出苗整齐,速度快。综上,M18 种子活力更高,在同等程度干旱胁迫的条件下,更容易萌发生长,具有一定的耐旱性。

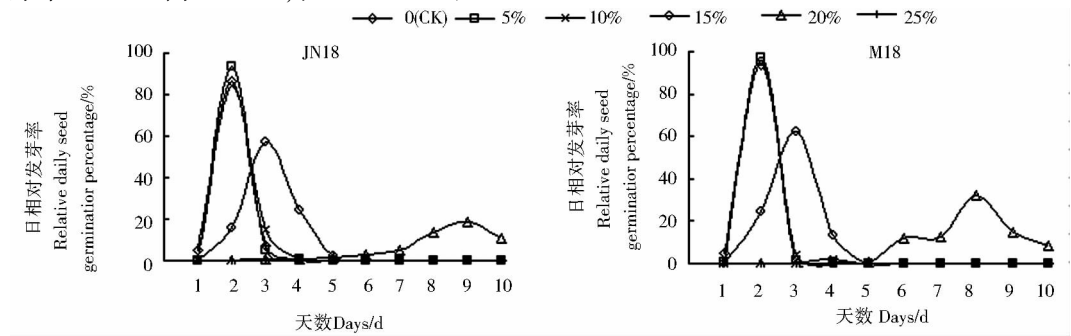


图 1 不同浓度 PEG 胁迫处理对大豆日相对发芽率的影响

Fig. 1 The effect of different PEG drought stress on the relative daily germination rate of *Glycine max*

2.2 PEG 模拟干旱胁迫对大豆幼苗根系生长的影响

由表 2 可知,随着 PEG 浓度的增加,JN18 和 M18 的主根长、侧根数、侧根总长、根重和侧根重均呈下降的趋势。二者在 5% PEG 和 10% PEG 处理中

侧根数差异显著 ($P < 0.05$),尤其在 15% PEG 处理中与抗旱性关系最密切根系各性状除根重外均存在极显著差异 ($P < 0.01$)。表明在中度干旱胁迫下,突变体 M18 主要是通过增加主根长、侧根数、根总长等性状来提高抗旱性。

表 2 PEG 处理对大豆幼苗根系生长的影响

Table 2 Effect of PEG treatment on the root growth of *Glycine max* seedlings

PEG 质量浓度 PEG mass concentration/%	材料 Material	主根长 Taproot length/cm	侧根数 Number of lateral roots	侧根总长 Total length of lateral roots/cm	根重 Root weight/g	侧根重 Lateral root weight/g
0 (CK)	JN18	15.24 ± 0.42	40.8 ± 1.68	51.37 ± 3.18	0.174 ± 0.01	0.154 ± 0.04
	M18	17.58 ± 0.79 *	44.53 ± 2.34	67.40 ± 5.12 *	0.179 ± 0.01	0.148 ± 0.02
5	JN18	13.80 ± 0.43	32.13 ± 1.37	48.33 ± 2.65	0.158 ± 0.01	0.128 ± 0.01
	M18	14.23 ± 0.44	37.67 ± 1.79 *	52.37 ± 3.31	0.161 ± 0	0.136 ± 0.01
10	JN18	10.05 ± 0.37	22.53 ± 1.18	25.67 ± 2.11	0.121 ± 0.01	0.077 ± 0.01
	M18	10.67 ± 0.34	26.27 ± 1.31 *	31.07 ± 2.22	0.129 ± 0	0.090 ± 0.01
15	JN18	7.66 ± 0.24	16.13 ± 1.05	11.41 ± 0.73	0.077 ± 0	0.023 ± 0
	M18	9.22 ± 0.46 **	23.07 ± 1.33 **	17.95 ± 1.90 **	0.088 ± 0	0.038 ± 0.02 **
20	JN18	—	—	—	0.023 ± 0	—
	M18	—	—	—	0.042 ± 0 **	—
25	JN18	—	—	—	—	—
	M18	—	—	—	—	—

“—”为种子未萌发而无法进行测量,下同。
“—” indicates no seed germination and can not be measured. The same below.

2.3 PEG 模拟干旱胁迫对大豆幼苗胚芽和子叶的影响

由表 3 可知,随着 PEG 浓度的增加,JN18 和 M18 的胚芽长、胚芽重和子叶重均呈下降趋势,但在相同浓度处理时,M18 的胚芽长和胚芽重均高于 JN18。当 PEG 浓度为 10% 时,M18 和 JN18 的胚芽长和胚芽重差异极显著 ($P < 0.01$),而在 PEG 浓度

为 15% 时,二者的胚芽长差异显著、胚芽重差异不显著,表明当 PEG 浓度为 15% 时两种大豆种子对干旱程度的敏感性较轻度干旱胁迫时发生了转变。当 PEG 浓度 $\geq 15\%$ 时,M18 的子叶重小于 JN18,可能与干旱胁迫时 M18 长势较 JN18 强有关,由 M18 子叶贮存的营养消耗速度大于 JN18 所造成的。

表 3 PEG 处理对大豆幼苗胚芽和子叶的影响

Table 3 Effect of PEG treatment on the embryo and cotyledon of *Glycine max* seedlings

PEG 质量浓度 PEG mass concentration/%	胚芽长 Embryo length/cm		胚芽重 Embryo weight/g		子叶重 Cotyledon weight/g	
	JN18	M18	JN18	M18	JN18	M18
0 (CK)	8.31 ± 0.26	8.52 ± 0.24	0.292 ± 0.02	0.333 ± 0.01	0.504 ± 0.01	0.519 ± 0.02
5	6.57 ± 0.25	7.03 ± 0.22	0.205 ± 0.01	0.206 ± 0.01	0.372 ± 0.01	0.421 ± 0.01 **
10	3.39 ± 0.16	4.65 ± 0.33 **	0.103 ± 0.01	0.133 ± 0.01 **	0.343 ± 0.02	0.350 ± 0.01
15	1.50 ± 0.11	1.97 ± 0.20 *	0.035 ± 0	0.043 ± 0	0.317 ± 0.01	0.303 ± 0.01
20	-	-	-	-	0.318 ± 0.01	0.315 ± 0.01
25	-	-	-	-	-	-

2.4 复水试验

渗透胁迫处理结束后,对未发芽的种子进行了复水试验,24 h 后计数,发现所有种子全部发芽。说明本试验范围内干旱胁迫只是推迟了种子的发芽时间并没有完全使之失去活力,在一定时间内恢复适宜的萌发条件种子便可以继续萌发。所以在播种遇到干旱季节部分作物种子未及时发芽时,可以在播种后一段时间内进行灌溉促使这部分种子萌发,但应根据干旱程度和作物种类等实际情况来选定具体时间。

3 结论与讨论

本研究结果表明,干旱胁迫抑制大豆种子发芽,影响大豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数与活力指数等指标。影响程度与干旱胁迫程度呈正相关,轻度干旱时,种子发芽受到的影响较小,中度干旱明显延迟种子发芽的时间,这与 Bouslama 等^[6]的研究结果一致;本试验结果还表明 PEG 溶液 20% ~ 25% 的浓度可能是抑制大豆萌发的临界浓度,而高小宽等^[7]报道,在 PEG 浓度为 30 g·L⁻¹ (3%) 时,栽培大豆基本不发芽,与本研究抑制大豆萌发的 PEG 浓度相差甚远,产生这种差异的原因可能与供试种子的基因型、发芽器皿大小、发芽温度和光照强度等条件不同有关。

Hudak 等^[8,9]报道品种耐旱性强弱与根系有密切关系,发达的根系与耐旱能力呈正相关。本试验结果表明,JN18 与 M18 的种子萌发时,随着干旱胁迫程度的增加,胚芽长、主根长、侧根数、侧根总长、根重以及侧根重均在减少,表明干旱胁迫起到了明显的抑制作用,且抑制作用与干旱程度呈正相关。但是,在同等干旱胁迫处理下,M18 的上述指标均高于 JN18,统计分析表明,15% PEG 处理下二者主根长、侧根数、侧根总长和侧根重等指标均达极显著差异水平 ($P < 0.01$),而胚芽长达显著差异水平 ($P < 0.05$)。表明干旱胁迫时,M18 的根系生长状况要强于 JN18,且 M18 根系生长的变化大于胚芽生长的变化。

综上所述,初步认定突变体 M18 较野生型亲本大豆 JN18 具有较强的抗旱性。然而,植物的抗旱性是一个受多基因调控的复杂性状^[10],单一指标并不能准确地反映植物的抗旱性,而且也不能以植物生长过程中某一个时期的抗旱性代替整个生育期的抗旱性^[11],因此,此抗旱突变体在干旱胁迫下的生

理生化特性、其余时期的抗旱性及其与抗旱相关的基因还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 朱鹏,韩阳,阮亚男. 不同大豆品种苗期抗旱性比较[J]. 大豆科学,2008,27(4):711-714. (Zhu P, Han Y, Ruan Y N. Comparison on drought resistance of different soybean varieties at seedling stage[J]. Soybean Science, 2008, 27(4):711-714.)
- [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] 孙景宽,张文辉,张洁明,等. 种子萌发期 4 种植物对干旱胁迫的响应及其抗旱性评价研究[J]. 西北植物学报,2006(9):1811-1818. (Sun J K, Zhang W H, Zhang J M, et al. Response to drought stresses and drought-resistances evaluation of four species during seed germination[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006(9):1811-1818.)
- [4] Michael B E, Kaufmann M R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000[J]. Plant Physiology, 1973, 51:914-916.
- [5] 石德成,殷立娟. 盐 (NaCl) 与碱 (Na₂CO₃) 对星星草胁迫作用的差异[J]. 植物学报,1993,35(2):144-149. (Shi D C, Yin L J. Difference between salt (NaCl) and alkaline (Na₂CO₃) stresses on *Puccinellia tenuiflora* Scribn. Etmerr. plants[J]. Acta Botanica Sinica, 1993, 35(2):144-149.)
- [6] Bouslama M, Schapaugh W T Jr. Stress tolerance in soybean. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance[J]. Crop Science, 1984, 24(5):933-937.
- [7] 高小宽,刘国杰,白丽荣. 聚乙二醇 (PEG) 模拟干旱胁迫对野生大豆与栽培大豆萌发的影响[J]. 大豆科学,2012,31(6):1027-1029. (Gao X K, Liu G J, Bai L R. Effect of polyethylene glycol (PEG) simulated drought stress on seed germination of wild and cultivated soybeans[J]. Soybean Science, 2012, 31(6):1027-1029.)
- [8] Benjamin J G, Nielsen D C. Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea[J]. Field Crops Research, 2006, 97(2):248-253.
- [9] Stolf-Moreira R, Medri M E, Neumaier N, et al. Soybean physiology and gene expression during drought[J]. Genetics and Molecular Research, 2010, 9(4):1946-1956.
- [10] 武丽娜,赵泓,刘凡. 蔬菜抗渗透胁迫基因工程研究进展[J]. 分子植物育种,2008,6(6):1167-1174. (Wu L N, Zhao H, Liu F. Advances in genetic engineering of vegetables for osmotic stress resistance[J]. Molecular Plant Breeding, 2008, 6(6):1167-1174.)
- [11] 任学良,李国柱,程文林,等. 绿豆突变体的抗旱性研究[J]. 核农学报,2004,18(2):100-103. (Ren X L, Li G Z, Chen W L, et al. Drought resistance characters of induced mung bean mutants[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2004, 18(2):100-103.)