

盐胁迫对大豆种子萌发过程中吸水和水解酶活性的影响

徐芬芬, 楚婕妤, 刘 誉, 徐 鹏, 胡志涛

(上饶师范学院 生命科学院, 江西 上饶 334000)

摘 要:利用不同浓度的 NaCl 溶液对两个品种的大豆种子进行胁迫萌发试验,研究了盐胁迫对大豆种子萌发的过程中吸水速率和水解酶活性的影响。结果表明:两品种大豆对 NaCl 胁迫的反应不同,低浓度(50 mmol·L⁻¹)的 NaCl 对早熟毛豆种子吸水 and 萌发均有促进作用,而对 1 号毛豆为抑制作用,当盐胁迫浓度达 100 mmol·L⁻¹时,早熟毛豆和 1 号毛豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数等均受到显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)抑制。高浓度 NaCl 胁迫处理使大豆种子吸水受到显著抑制,进而引起淀粉酶活性和蛋白酶活性降低,可能是高盐胁迫抑制大豆种子萌发的主要原因;盐胁迫下早熟毛豆较快的吸水速率和较高的水解酶活性可能是其发芽率高于 1 号毛豆的原因。

关键词:盐胁迫;大豆;种子萌发;淀粉酶活性;蛋白酶活性

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2017.01.0074

Effects of Salt Stress on Water Uptake and Hydrolytic Enzyme Activities During Soybean Seed Germination

XU Fen-fen, CHU Jie-yu, LIU Yu ,XU Peng, HU Zhi-tao

(Life Science College, Shangrao Normal University, Shangrao 334000, China)

Abstract: The effects of salt stress on the water uptake rate and the activity of hydro-lase in soybean seeds were investigated under different salt concentrations. The results showed that the response to NaCl stress of the two varieties of soybean was different. The water absorption and germination of early-maturing soybean seeds under the low concentration (50 mmol·L⁻¹) of NaCl were promoted, but were inhibited in the NO. 1 soybean. When the salt concentration reached 100 mmol·L⁻¹, the germination rate, germination potential and germination index of early-mature soybean and No. 1 soybean seeds were all significantly ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) inhibited. High salt concentration significantly inhibited the water uptake of soybean seeds, resulting in the decreasing of amylase activity and protease activity, which was the main reason for the inhibition of soybean seed germination under high salt stress. The faster rate of water absorption and the higher hydrolytic enzyme activities of early-maturing soybean under salt stress were the reason for its higher germination rate than that of No. 1 soybean.

Keywords: Salt stress; Soybean; Seed germination; Amylase enzyme activity; Protease enzyme activity

盐胁迫一般通过降低土壤水势,造成种子吸水困难,进而影响种子萌发和出苗。在不同盐浓度下,种子萌发会受到不同程度的影响,一般低盐浓度对种子发芽影响较小或基本无不利影响,但盐浓度高于一定阈值时种子的发芽率显著下降^[1-3]。吸足水分是种子萌发和出苗的前提,盐碱胁迫条件下,植物体含水量能够反映其在逆境下保水能力,也间接地反映其对盐碱环境的适应能力。植物体内含有一定量的水分,不仅可以参与植物体各种生理代谢反应,还可以在植物体受到外界环境因子胁迫时维持植物体的基本生理反应,维持植物的正常生长状态,使植物体可以在恶劣的条件下存活下来^[4]。种子发芽是一个需要大量能量的过程,种子萌发依靠水解酶分解贮存的脂肪、蛋白质和淀粉为

幼胚的生长提供能量和物质,其中,淀粉在淀粉酶的作用下经过一系列反应生成蔗糖、葡萄糖、果糖等各种糖类化合物,为种子萌发提供碳源和能量。水解酶活力直接影响种子萌发和幼苗生长速度。目前国内外关于盐胁迫抑制大豆种子萌发机制方面的研究主要集中在离子平衡、渗透调节物质等^[5]方面,而在种子吸水和水解酶活性等方面的研究少见报道。张鹏^[5]研究发现 80 mmol·L⁻¹的 NaCl 溶液进行盐胁迫培养 72 h 的发芽情况可以较好地地区分品种的耐盐性,张金霞等^[6]用 100 mmol·L⁻¹的 NaCl 溶液进行盐胁迫较好地地区分了 3 个大豆品种的耐盐性。基于前人的研究结果,本研究选用 50, 100,150 mmol·L⁻¹3 个不同的盐浓度研究了抗盐性不同的两个大豆品种萌发期种子吸水 and 蛋白酶、淀

收稿日期:2016-10-24
基金项目:2015 年江西省教育厅科技项目(GJJ151055);2015 年上饶师范学院科技项目(201503)。
第一作者简介:徐芬芬(1978-),女,硕士,副教授,主要从事植物逆境生理研究。E-mail:xfylm7875@163.com。

粉酶活性的影响,以期 为盐碱地大豆品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大豆品种:早熟鲜食毛豆,抗盐性较强;1 号毛豆,由台湾引进原种繁育,抗盐性较弱。

1.2 试验方法

30 粒颗粒饱满、均匀一致的风干种子,用 1% 次氯酸钠溶液浸泡 10 min 消毒,再用纯净水冲洗 3 遍,用吸水纸擦干称重,作为种子的原始重量。将种子均匀放入铺有 2 层滤纸的培养皿(直径 9 cm)中,加入 10 mL 不同浓度(0,50,100,150 mmol·L⁻¹,分别代表无胁迫、轻度、中度和重度盐胁迫)的 NaCl 溶液。将处理好的种子置于温度 25℃、相对湿度 60%、自然光照的培养箱中进行培养。培养过程每天更换 1 次溶液,以保证试验过程中盐浓度的恒定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 吸水速率 为了解大豆种子吸水情况,试验开始后每 2 h 将各培养皿的种子取出,用吸水纸快速吸去种子表面的残留水分后称重,以种子在水溶液中吸水饱和为止,计算每粒种子的吸水量。

1.3.2 萌发情况 12 h 后开始观察,记录发芽情况,统计发芽率、发芽势、发芽指数,萌发以胚根长达到种子长度一半为标准,以后每天观察一次。发芽结束后随机选取 10 粒出芽种子测定胚芽长和胚根长。发芽率、发芽势、发芽指数计算公式如下:

发芽率(%)=(第 5 天全部发芽的种子数/供试种子数)×100;

发芽势(%)= $n/N \times 100$ 式中, n 为前 3 次的发芽种子数, N 为种子总数 100;

发芽指数(GI)= $\sum Gt/Dt$,式中, Gt 为第 t 天种子发芽数, Dt 为对应的种子发芽的天数。

1.3.3 水解酶活性 α -淀粉酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸还原法^[7],蛋白酶活性测定参照王肇慈的方法^[8],上述水解酶活性均于培养第 2 天起测定,每天测 1 次。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对不同品种大豆种子吸水速率的影响

由图 1 可知,CK 和 50 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,两个品种的大豆种子吸水最快的时间均在 2 h,100 和 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理则在 4 h,均延迟了两个大豆品种种子的吸水高峰期。两品种大豆对不同

浓度 NaCl 胁迫的反应不同,50 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 对早熟毛豆种子吸水有促进作用,当 NaCl 胁迫浓度达到 100 mmol·L⁻¹ 时早熟毛豆吸水受到抑制,而 1 号毛豆则在低浓度 NaCl 胁迫下吸水即受抑制。

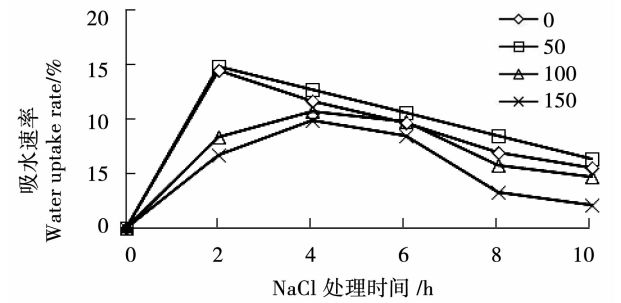


图 1 NaCl 胁迫对早熟毛豆种子萌发过程中吸水速率的影响

Fig.1 Effects of NaCl stress on water uptake rate of early-ripe soybean seed

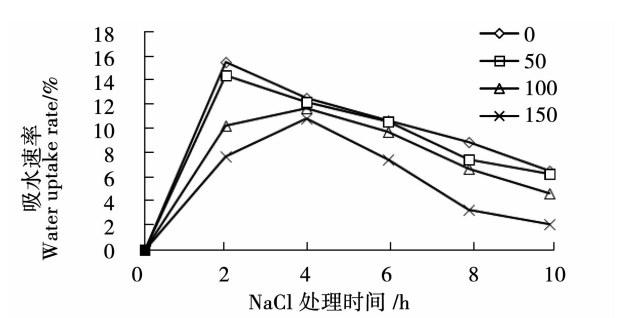


图 2 NaCl 胁迫对 1 号毛豆种子萌发过程中吸水速率的影响

Fig.2 Effects of NaCl stress on water uptake rate of No.1 soybean seed

2.2 盐胁迫对大豆种子萌发的影响

由表 1 可知,50 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 对早熟毛豆种子萌发有促进作用,表现为发芽率、发芽指数和发芽势均显著高于 CK ($P < 0.05$),100 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下,早熟毛豆发芽率降低不显著。50 mmol·L⁻¹ 对 1 号毛豆发芽即表现出显著抑制,其发芽率、发芽指数和发芽势均显著低于 CK ($P < 0.05$),100 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下,1 号毛豆发芽率、发芽势和发芽指数均极显著低于 CK ($P < 0.05$)。早熟毛豆各发芽指标值在不同盐浓度处理间的差异均较 1 号毛豆小,且在低浓度(50 mmol·L⁻¹) NaCl 处理下萌发受到促进。

发芽势和发芽指数反应了发芽的势头和速度,本试验结果发现盐胁迫下两个品种大豆种子发芽势和发芽指数受抑制的程度均大于发芽率,说明盐胁迫延迟了大豆种子萌发,降低了大豆种子萌发的速度。

表 1 NaCl 胁迫对大豆种子发芽指标的影响

Table 1 Effects of NaCl stress on seed germination of soybean

NaCl /(mmol·L ⁻¹)	发芽率		发芽势		发芽指数	
	Germination rate /%		Germination potential /%		Germination index	
	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆
	Early-mature soybean	No. 1 Soybean	Early-mature soybean	No. 1 Soybean	Early-mature soybean	No. 1 Soybean
0 (CK)	53.3 ± 3.8 aA	75.0 ± 6.5 aA	35.0 ± 1.3 aA	55.0 ± 4.8 aA	76.9 ± 5.8 bB	115.0 ± 14.7 aA
50	65.0 ± 3.5 aA	66.7 ± 1.5 bA	45.0 ± 2.0 aA	46.7 ± 4.1 bA	96.9 ± 6.2 aA	99.8 ± 7.5 bA
100	45.0 ± 5.5 bAB	40.0 ± 4.0 cB	18.3 ± 1.4 cB	11.7 ± 1.5 cB	61.6 ± 4.5 cB	37.5 ± 3.5 cB
150	33.3 ± 2.5 cB	25.0 ± 2.5 dC	5.0 ± 1.0 dC	0.0 ± 0.0 dC	22.8 ± 3.0 dC	15.0 ± 3.5 dC

2.3 盐胁迫对大豆种子萌发过程 α - 淀粉酶活性的影响

由表 2 可知,两品种各处理的 α - 淀粉酶活性均随胁迫时间的延长呈增强的趋势。两品种对不同 NaCl 胁迫浓度的反应不同,早熟毛豆在 50 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 胁迫下淀粉酶活性均高于 CK,但与 CK 无显著差异,100 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 胁迫处理组 α - 淀粉酶活性均显著低于 CK ($P < 0.05$),150 mmol·L⁻¹

的 NaCl 胁迫处理组 α - 淀粉酶活性均极显著低于 CK ($P < 0.01$);1 号毛豆则随盐胁迫浓度的增大一直降低,50 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 胁迫下 α - 淀粉酶活性与 CK 无显著差异,100 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫处理组 α - 淀粉酶活性极显著低于 CK ($P < 0.01$)。即 NaCl 胁迫极显著抑制早熟毛豆 α - 淀粉酶活性的浓度为 150 mmol·L⁻¹,极显著抑制 1 号毛豆 α - 淀粉酶活性的浓度为 100 mmol·L⁻¹。

表 2 不同浓度 NaCl 对大豆种子萌发过程中 α - 淀粉酶活性的影响

Table 2 Effect of NaCl stress on amylum enzyme activity of soybean seed during germinating (U·g⁻¹)

NaCl /mmol·L ⁻¹	第 2 天 2 nd day		第 3 天 3 rd day		第 4 天 4 th day	
	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆
	Early-mature soybean	No. 1 soybean	Early-mature soybean	No. 1 soybean	Early-mature soybean	No. 1 soybean
0 (CK)	312.5 ± 12.3 aA	331.5 ± 12.8 aA	314.3 ± 12.3 aA	339.7 ± 11.3 aA	326.6 ± 11.3 aA	342.7 ± 18.5 aA
50	316.7 ± 7.6 aA	326.4 ± 15.5 aA	328.2 ± 14.5 aA	338.6 ± 10.4 aA	331.8 ± 9.2 aA	334.2 ± 6.5 aA
100	267.8 ± 12.5 bAB	251.8 ± 13.0 bB	287.8 ± 13.0 bA	271.8 ± 13.0 bB	298.9 ± 18.0 bA	282.9 ± 11.4 bB
150	225.7 ± 11.5 cB	215.9 ± 11.0 cB	237.5 ± 11.0 cB	224.2 ± 12.0 cC	225.8 ± 12.8 cB	215.8 ± 17.8 cC

2.3 盐胁迫对大豆种子萌发过程蛋白酶活性的影响

由表 3 分析可知,蛋白酶活性的变化趋势与 α - 淀粉酶相同。50 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 处理对早熟毛豆种子蛋白酶活性有促进作用,但促进作用不显著;100 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 胁迫处理组则表现为抑制作用,并且在胁迫的前期(第 2 ~ 4 天)抑制作用不显著,随着胁迫时间的延长(即在处理后的第 5 天)开始表现为显著抑制,150 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 胁迫处理在第 4 天开始受到显著抑制 ($P < 0.05$)。50 ~ 150 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 处理对 1 号毛豆蛋白酶活性

始终表现为抑制作用,其中,50 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 处理抑制作用不显著,100 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 处理表现为显著抑制 ($P < 0.05$),150 mmol·L⁻¹ 的 NaCl 处理表现为极显著抑制 ($P < 0.01$)。

萌发过程中正常情况下,种子内的贮藏物质在水解酶的作用下,不断水解供胚生长需要,因而水解酶活性逐渐增强,直到子叶长出能进行光合作用。本试验结果表明,高浓度盐胁迫下大豆种子因胁迫时间过长水解酶活性受到抑制,这可能是盐胁迫抑制种子萌发的主要原因之一。

表 3 不同浓度 NaCl 对大豆种子萌发过程中蛋白酶活性的影响

Table 3 Effect of NaCl stress on pro-tease enzyme activity of soybean seed during germinating (U·g⁻¹)

NaCl /mmol·L ⁻¹	第 2 天 2 nd day		第 3 天 3 rd day		第 4 天 4 th day		第 5 天 5 th day	
	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆	早熟毛豆	1 号毛豆
	Early-mature soybean	No. 1 soybean	Early-mature soybean	No. 1 soybean	Early-mature soybean	No. 1 soybean	Early-mature soybean	No. 1 soybean
0 (CK)	8.6 ± 0.8 abA	9.8 ± 0.8 aA	9.1 ± 0.8 aA	10.5 ± 0.6 aA	10.7 ± 0.9 abA	11.6 ± 0.8 aA	12.6 ± 0.7 aA	13.3 ± 0.6 aA
50	9.4 ± 0.4 aA	9.6 ± 0.3 aA	9.6 ± 0.6 aA	10.2 ± 0.7 aA	11.3 ± 0.7 aA	11.4 ± 0.7 aA	12.8 ± 0.8 aA	13.2 ± 0.3 aA
100	8.5 ± 0.5 abA	7.5 ± 0.6 bcAB	9.3 ± 0.4 aA	9.1 ± 0.7 bcAB	9.8 ± 0.8 bcA	9.6 ± 0.6 bAB	11.0 ± 0.8 bcAB	10.6 ± 0.4 bB
150	7.7 ± 0.8 bA	6.2 ± 0.9 cB	8.7 ± 0.7 aA	8.1 ± 0.4 cB	9.3 ± 0.4 cA	8.4 ± 0.5 bB	10.0 ± 0.4 cB	9.0 ± 0.3 cB

3 讨 论

吸到足够的水分是种子萌发的前提。种子只有从外界吸收足够的水分后胚细胞中的蛋白质和贮存 RNA 才能活化,合成萌发所需的各种酶和结构蛋白,进而完成细胞分裂分化及胚生长。本研究结果发现,两个大豆品种对盐胁迫的反应不同,在盐浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抗盐品种早熟毛豆种子的吸水 and 萌发均受到促进,而 1 号毛豆对盐胁迫相对更敏感,在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时即表现为抑制。当盐胁迫浓度达 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,早熟毛豆和 1 号毛豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数等均受到显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$) 抑制。在相同浓度盐胁迫下,抗盐品种早熟毛豆表现出更高的吸水速率进而表现出更高的萌发率。表明盐胁迫下,抗盐品种能保持较强的吸水速率可能是其耐盐性较强的原因。

淀粉酶和蛋白酶活性下降是种子内储藏物质转化受阻,同时也是导致盐胁迫下种子发芽受抑制的重要原因^[9-10]。本研究结果表明,两个抗盐性不同的大豆种子 α -淀粉酶和蛋白酶活性对不同浓度 NaCl 胁迫反应不同。 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 处理对抗盐品种早熟毛豆两种水解酶活性均有促进作用,但对盐敏感品种 1 号毛豆则为抑制,与发芽率的变化一致; $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理下早熟毛豆和 1 号毛豆 α -淀粉酶活性分别受到显著 ($P < 0.05$) 和极显著抑制 ($P < 0.01$), $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理早熟毛豆蛋白酶活性在盐处理后的第 2~4 天均没有受到显著抑制,到第 5 天受到显著抑制,而 1 号毛豆在盐处理后始终表现为显著抑制作用 ($P < 0.05$),到第 5 天表现为极显著抑制作用 ($P < 0.01$)。表明,随着盐胁迫浓度的增大和胁迫时间的延长,水解酶活性受抑制加强,且受抑制的程度与品种特性有关,抗性强的品种受抑制程度较小。可见,抗盐品种早熟毛豆种子萌发过程中,能保持较高的水解酶活性,是其耐盐性较强的原因,水解酶对不同盐浓度的反应不同可能是不同品种产生不同抗盐性的原因所在。

4 结 论

盐胁迫下,早熟毛豆(抗性品种)在较 1 号毛豆(敏感品种)具有较快的吸水速率、更高的发芽率和水解酶活性。早熟毛豆可以耐轻度盐胁迫,可以在盐碱化程度较轻的土壤种植,而 1 号毛豆对盐胁迫较敏感,不适合在盐碱土种植。蛋白酶和淀粉酶等

水解酶活性降低可能是盐胁迫抑制大豆种子萌发的主要原因。

参考文献

- [1] 谢德意,王惠萍,王付欣,等. 盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国棉花,2000,27(9):12-13. (Xie D Y, Wang H P, Wang F X, et al. Effects of salt stress on seed germination and seedling growth of cotton [J]. China Cotton, 2000,27(9):12-13.)
- [2] 朱志华,胡荣海,宋景芝,等. 盐胁迫对不同小麦品种种子萌发的影响[J]. 作物品种资源,1996(4):25-29. Zhu Z H, Hu R H, Song, J Z, et al. Effects of salt stress on seed germination of different wheat cultivars[J]. Crop Germplasm Resou, 1996(4):25-29.)
- [3] 张秀玲. 不同盐胁迫对苘麻种子萌发的影响[J]. 江苏农业科学,2008(1):35-37. Zhang X L. Effects of different salt stress on seed germination of *Abutilon theophrasti* [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2008(1):35-37.)
- [4] 周妍. 盐胁迫对大豆种子萌发、离子平衡及可溶性糖含量影响的研究[D]. 长春:东北师范大学,2014. (Zhou Y. Research on germination ionic balance and soluble sugars content of *Glycine max* under saline stress [D]. Changchun: Northeast Normal University,2014.)
- [5] 张鹏. 大豆品种耐盐性的快速鉴定法及不同时期耐盐性的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2013. (Zhang P. Fast identification method of salt-tolerance and research on salt-tolerance at different stages of soybean cultivars [D]. Changchun: Jilin Agricultural University,2013.)
- [6] 张金霞,董德坤,胡兴旺,等. 三个大豆品种萌发期和苗期的耐盐性比较[J]. 浙江农业学报,2016,28(7):1101-1107. (Zhang J X, Dong D K, Hu X W, et al. Research on salt tolerance of three soybean varieties at both germination and seedling stage [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2016, 28(7):1101-1107.)
- [7] 张志良,翟伟管. 植物生理学实验指导[M]. 3版. 北京:高等教育出版社,2003:135. (Zhang Z L, Zhai W Q. Plant physiology experimental guide [M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2003:135.)
- [8] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2004:249-252. (Wang Z C. Quality analysis of grain and food quality [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2004:249-252.)
- [9] 程大友,张义,陈丽. 氯化钠胁迫下甜菜种子的萌发[J]. 中国糖料,1996(2):21-23. (Cheng D Y, Zhang Y, Chen L. Seed germination of sugar beet under NaCl stress [J]. Chinese Sugar-cane, 1996(2):21-23.)
- [10] 孙小芳,郑青松,刘友良. NaCl 胁迫对棉花种子萌发和幼苗生长的伤害[J]. 植物资源与环境学报,2000,9(3):22-25. (Sun X F, Zheng Q S, Liu Y L. Effects of NaCl stress on seed germination and seedling growth of cotton [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2000,9(3):22-25.)