

苗期干旱胁迫对不同大豆品种叶片保护酶活性及丙二醛含量的影响

芮海英¹,王丽娜¹,金铃¹,李亮¹,潘红丽¹,李建英¹,李泽宇¹,谷维²,金勋¹

(1. 黑龙江省农业科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江省农业科学院 作物营养研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为选育优良抗旱的大豆品种以及进一步研究大豆抗旱机制,选用4个大庆地区主栽品种,分别在干旱胁迫条件下测定了叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性以及丙二醛(MDA)含量,比较了4个品种耐旱性的差异,探讨了其对不同强度干旱胁迫的生理适应性机制。结果表明:在干旱胁迫条件下,4个大豆品种叶片中3种保护性酶活性均呈先增加后降低的趋势,而丙二醛含量则一直增加。干旱胁迫下,品种间各保护酶活性由高到低依次为抗线3号、抗线12、合丰50和抗线9号,而丙二醛含量则相反。说明抗线3号耐旱性较强,而抗线9号耐旱性最差。

关键词:干旱胁迫;大豆;生理指标

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2013)05-0647-03

Effect of Drought Stress at Seedling on Protective Enzyme Activity and MDA Content of Different Soybeans

RUI Hai-ying¹, WANG Li-na¹, JIN Ling¹, LI Liang¹, PAN Hong-li¹, LI Jian-ying¹, LI Ze-yu¹, GU Wei², JIN Xun¹

(1. Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing 163319, China; 2. Crop Nutrition Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to select soybean varieties with stonger drought resistance, four popular planted soybean cultivars were exposed to drought stress at seedling stage in greenhouse, the activity of superoxidase(SOD), peroxidase(POD), catalase(CAT) as well as malondialdehyde(MDA) content were determined. Under drought stress, the activity of SOD, POD and CAT showed increase and then decrease trend, while MDA content increased steadily. The activity of three protective enzymes in decending order was Kangxian 3, Kangxian 12, Hefeng 50, and Kangxian 9, while MDA content showed opposite trend. Results showed the drought resistance of Kangxian 3 was the highest, and Kangxian 9 was the lowest.

Key words: Drought stress; Soybean; Physiological index

全球土地有1/3属于干旱或半干旱类型,在世界范围内,干旱已成为农业生产的主要危害之一^[1]。因此,对干旱胁迫与抗旱机理的研究日益受到重视,研究植物在干旱胁迫时的生理生化反应及其机制以及选育耐旱性强的品种成为重要的研究目标。

大豆需水量较高,根系不发达,是豆类作物中对缺水最敏感的一种^[2]。大豆在遭受干旱胁迫时会产生大量的活性氧类,对大豆造成氧化胁迫,导致细胞膜生理功能受损。但是大豆中存在着保持和稳定膜组成以及消除活性氧的光氧化作用的主要酶类,如超氧化物歧化酶(SOD)能催化O₂⁻的歧化反应,生成H₂O₂和O₂,H₂O₂在过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)催化下转化为水而得以清除^[3]。

目前关于植物在受到干旱胁迫时,体内保护酶活性和膜脂过氧化的报道很多,证明保护酶活

性与植物的耐旱性有一定的关系^[4-5]。黑龙江省是我国的大豆主产区,年产量达500万~600万t,干旱是影响大豆产量的重要障碍因子。为筛选优良的抗旱大豆品种以及进一步研究大豆抗旱机制,现选用4个大庆地区主栽品种,采用盆栽方式进行干旱胁迫,分别测定了苗期叶片干旱胁迫后SOD、POD、CAT活性及MDA含量变化,探讨了其对不同强度干旱胁迫的生理适应性机制。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2012年在黑龙江省农业科学院大庆分院智能温室内进行,温度白天控制在25℃左右,夜间控制在15℃左右,空气湿度为60%。选用规格相同的塑料盆播种,基质选用进口草碳土,每个盆中装体积相同的基质。采用黑龙江省农业科学院大庆分院抗线大豆研究室提供的4个大庆地区主栽

收稿日期:2013-05-15

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划(2012BAD20B04-2)。

第一作者简介:芮海英(1977-),女,硕士,助理研究员,主要从事生物技术研究。E-mail:rhy11111@163.com。

通讯作者:金勋(1962-),男,博士,副研究员,主要从事植物遗传育种研究。E-mail:jinxun6268@126.com。

品种:抗线3号、抗线9号、抗线12和合丰50。将精选的大豆种子按常规播种,每个品种播种30盆,每盆定植3株,常规栽培管理。待大豆叶片第二出复叶完全展开时,每个品种取20盆,取样前3d开始停止浇水进行干旱处理,取样期间土壤相对含水量每日减少7%~8%,土壤含水量从75%~80%降至30%~35%;另10盆为对照正常浇水,对照盆中含水量始终保持在75%~80%。盆土含水量用称重法控制^[6]。每天早9:00取样,连续取7d,分别剪取生长发育一致的植株的复叶称取0.5g,迅速用铝箔纸包好,然后用液氮迅速冷冻20min,保存在-80℃冰柜中备用。

1.2 测定项目与方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用NBT(氯化硝基四氮唑蓝)光化还原法测定,以每单位时间内光还原50%氮蓝四唑为1个酶活性单位;过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收方法测定,以每分钟A₂₄₀减少0.1的酶量为1个酶活性单位;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,于470nm波长下测定反应体系每分钟每克鲜质量增加0.01为1个酶活力单位;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[7]。

1.3 数据分析

采用DPS v7.05进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对大豆苗期叶片SOD活性的影响

SOD作为超氧自由基清除剂,其活性高低与植物的抗逆性大小有一定的相关性,在适度的逆境诱导下,SOD活性增加能提高植物的适应能力^[8]。由图1可知,随着干旱胁迫天数的增加,各大豆叶片SOD活性均呈先增加后降低的趋势。抗线3号、抗线12和合丰50都是在干旱胁迫第3天时SOD活

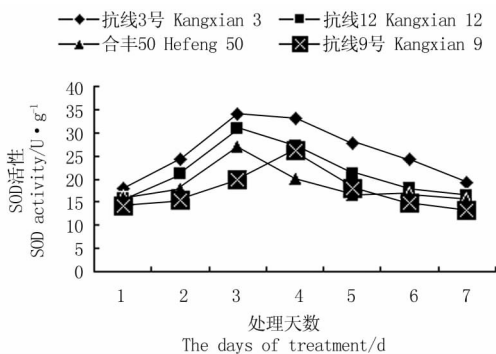


图1 干旱胁迫对4个大豆品种SOD活性的影响
Fig.1 Effects of drought stress on SOD activity of four soybean cultivars

性达到峰值,而抗线9号在干旱胁迫第4天时才达到峰值。在受到干旱胁迫时,抗线3号和抗线12的SOD活性增加较迅速并且下降速度缓慢,而抗线9号和合丰50的趋势相反。整个干旱胁迫过程中,抗线3号的SOD活性最高,然后依次为抗线12、合丰50和抗线9号。

2.2 干旱胁迫对大豆苗期叶片POD活性的影响

POD是植物体内重要的抗氧化酶,它能协同其他酶类一起清除H₂O₂,起着保护和稳定生物膜的作用^[9]。从图2可以看出,随着干旱胁迫时间的延长,4个大豆叶片的POD活性变化均呈先升后降的趋势,并均在干旱处理第4天时达到峰值。在受到干旱胁迫时,抗线3号的POD活性增加迅速,随着干旱时间的延长,POD活性下降的较其他品种缓慢。总体而言,抗线3号的POD活性最高,然后依次为抗线12、合丰50和抗线9号。

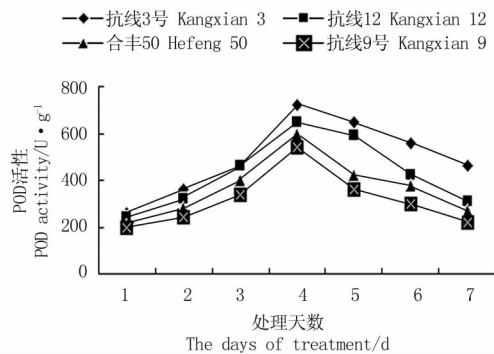


图2 干旱胁迫对4个大豆品种POD活性的影响
Fig.2 Effects of drought stress on POD activity of four soybean cultivars

2.3 干旱胁迫对大豆苗期叶片CAT活性的影响

过氧化氢酶可以分解过氧化氢,与超氧化物歧化酶协同作用,可以最大限度地减少羟自由基的形成。从图3可以看出,随着干旱胁迫天数的增加,4个大豆品种叶片的CAT活性变化均呈先升后降的趋势,其中抗线3号和抗线12在干旱胁迫第3天达

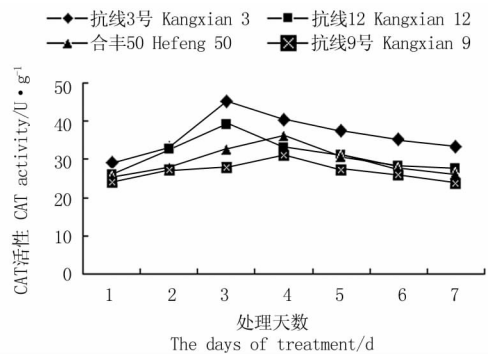


图3 干旱胁迫对4个大豆品种CAT活性的影响
Fig.3 Effects of drought stress on CAT activity of four soybean cultivars

峰值,合丰50和抗线9号在干旱胁迫第4天时达峰值。在干旱胁迫2 d时4个大豆品种叶片的CAT活性变化不大,而后酶活性开始迅速升高。抗线3号的CAT活性最强,然后依次为抗线12、合丰50和抗线9号。

2.4 干旱胁迫对大豆苗期叶片MDA含量的影响

MDA是膜脂氧化的主要产物之一,对膜和细胞中的许多生物功能分子如蛋白质、核酸和酶等均有很强的破坏作用,并参与破坏生物膜的结构与功能,其累积可作为膜脂过氧化程度的指标之一^[10]。从图4可以看出,大豆在受到干旱胁迫时,4个大豆品种叶片的MDA含量一直呈增加的趋势,MDA含量在胁迫的前2天积累不明显,之后增加迅速,尤以抗线9号的增加最为明显。抗线3号叶片的MDA含量较其他3个品种低,而且增加的幅度也低于其他3个品种。

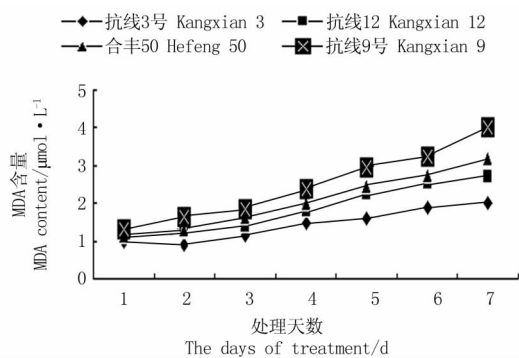


图4 干旱胁迫对4个大豆品种MDA含量的影响
Fig. 4 Effects of drought stress on MDA content of four soybean cultivars

3 讨论

逆境条件下植物体内同时存在膜保护系统,能够清除体内多余的自由基,其活性氧自由基代谢是一个动态的变化过程,这一保护酶系统实际上是一个抗氧化系统,它是由许多酶和还原型物质组成,其中SOD、POD和CAT是主要的抗氧化酶,可清除体内有害的活性氧,从而保护植物膜系统^[11]。已有研究表明,植物的抗旱性与其保护酶系统清除活性氧的能力相关。

本试验结果表明,在轻度干旱胁迫下4个大豆品种叶片的保护酶活性均呈上升的趋势,但在重度胁迫时,保护酶活性都呈下降的趋势。说明在轻度胁迫时,外界胁迫能诱导体内保护酶活性提高,可以有效清除一部分活性氧,以避免对植物产生严重伤害。但在严重干旱胁迫时,植物体内保护酶系统的活力和平衡受到破坏,使活性氧积累,启动并加剧膜脂过氧化而造成整体膜的损伤。本试验结果还显示,在干旱胁迫

的过程中,耐旱性较强的抗线3号的保护酶活性高于耐旱性较弱的其他3个品种,而丙二醛含量却恰好相反。可见植物体内保护酶活性越强其耐旱能力也越强。这与相关学者在玉米^[12]、冷蒿^[13]和柑橘^[14]上的研究结果大致相同,但不同作物在干旱胁迫后保护酶活性变化的趋势以及在同样的胁迫时间内酶活性都不尽相同,这可能与植物的抗旱能力、体内保护酶系统的活力及钙离子等营养元素的含量、分布和抗氧化物质含量等因子的差异有关。

试验结果还表明,随着干旱胁迫时间延长,大豆幼苗叶片的MDA含量的均呈逐渐递增的趋势。在轻度胁迫时,MDA含量及膜透性变化幅度较小,胁迫3 d后增幅明显加大。这说明轻度胁迫对细胞膜脂过氧化影响较小,而重度胁迫则影响较大,膜损伤较重。综合干旱胁迫下SOD、POD、CAT活性及MDA含量变化结果,抗线3号耐旱性最强,然后依次为抗线12和合丰50,抗线9号耐旱性最弱。

参考文献

- [1] 田桂香,汤绍虎,武敬亮,等. 干旱胁迫对黄连生理作用的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2006,31(2):133-136. (Tian G X, Tang S H, Wu J L, et al. Effects of drought stress on physiology of *Rhizoma coptidis* Franch[J]. Journal of Southwestern Normal University (Natural Science), 2006, 31(2): 133-136.)
- [2] 山仑,陈国良. 黄土高原旱地农业的理论与实践[M]. 北京: 科学出版社,1993:120-129. (Shan L, Chen G L. The Loess Plateau dryland agriculture theory and practice [M]. Beijing: Science Press, 1993: 120-129.)
- [3] Asada K. Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1992, 85: 235-241.
- [4] 陈由强,叶冰莹,朱锦懋,等. 渗透胁迫对花生幼叶活性氧伤害和膜脂过氧化作用的影响[J]. 中国油料作物学报,2000,22(1):53-56. (Chen Y Q, Ye B Y, Zhu J M, et al. Effects of osmotic stress on active oxygen damage and membrane lipid peroxidation of leaves in varities of peanut (*Arachis hypogaea*) [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2000, 22(1): 53-56.)
- [5] 李明,王根轩. 干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 生态学报,2002,22(4):503-507. (Li M, Wang G X. Effect of drought stress on activities of cell defense enzymes and lipid peroxidation in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(4): 503-507.)
- [6] 薛慧勤,孙兰珍. 水分胁迫对不同抗旱性花生品种生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究,1997,15(4):82-85. (Xue H Q, Sun L Z. Effect of water stress on physiological characters in different drought resistant peanut varieties [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 1997, 15(4): 82-85.)
- [7] 郝再彬,苍晶,徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社,2004:106-115. (Hao Z B, Cang J, Xu Z. Plant physiology experiments [M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004: 106-115.)