

亚精胺提高大豆幼苗的抗旱性

张 胜¹, 刘怀攀², 陈 龙², 刘友良³

(1. 河南漯河职业技术学院, 河南 漯河 462000; 2. 河南周口师范学院植物学重点实验室, 河南 周口 466000;

3. 南京农业大学 生命科学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 对亚精胺(spermidine, Spd)在抗旱性不同的大豆品种幼苗中的作用进行了研究。结果表明, 抗旱品种豫豆 24 号在渗透胁迫处理时, 其叶片中的 Spd 含量明显大于不抗旱的豫豆 6 号。用 Spd 合成的抑制剂 MGBG 处理豫豆 24 号, 则导致 Spd 含量下降和抗性的降低, 外源 Spd 又可逆转 MGBG 对豫豆 24 号在渗透胁迫下的伤害。外源 Spd 可以明显提高豫豆 6 号的叶片内 Spd 含量, 并相应提高其抗性。以上结果表明, Spd 可以提高大豆幼苗的抗渗透胁迫能力。

关键词: 大豆; 渗透胁迫; 亚精胺

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2005)04- 0025- 03

Spd Enhanced Resistance of Soybean Seedling Under Water Stress

ZHANG Sheng¹, LIU Huai-pan², CHEN Long², LIU You-liang³

(1. Luohe Vocational and Technical College, Luohe 462000, China;

2. Key Lab of Plant Science, Zhoukou Normal College, Zhoukou 466000, China;

3. College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effect of spermidine on soybean seedlings under water stress was investigated. The results showed that under water stress, the Spd in leaves increased much more markedly in drought-tolerant Yudou No. 24 than in drought-sensitive Yudou No. 6. Treatment of methylglyoxal-bis(guanyldiazone) (MGBG), an *S*-adenosylmethionine decarboxylase (Which catalyzes the Spd synthesis) inhibitor, brought about apparent reduction of Spd in leaves of Yudou No. 24 seedlings subjected to water stress, which was in concert with the decrease of its seedling resistance to stress. Exogenous Spd could reverse MGBG injury effect on Yudou No. 24 seedlings under stress. Furthermore, exogenous Spd could elevate the endogenous Spd level in leaves of Yudou No. 6 seedlings subjected to water stress and alleviate its injury. The results above suggested that Spd could enhance resistance of soybean seedling subjected to water stress.

Key words: Soybean; Osmotic stress; Spd

干旱胁迫对农业生产有极其严重的影响, 其危害相当于其他自然灾害之和^[1, 2]。对植物耐旱性的研究以及探索提高植物抗旱能力的途径一直是各国科研工作者关注的热点之一^[3, 4]。多胺是调控植物生长和发育的重要生理活性物质。常见多胺有腐胺(Put)、尸胺(Cad)、亚精胺(Spd)、精胺(Spm)等。Spd和Spm合成的关键酶是S-腺苷蛋氨酸脱羧酶, 甲基乙二醛-双(鸟嘌呤) (MGBG) 是此酶的专一性抑制剂。多胺不仅具有调节植物生长发育、性别分化、果

疏成熟与衰老等功能, 而且越来越多的研究证明它们与植物对外界环境的胁迫反应的关系非常密切^[5, 6]。我们以前研究了小麦幼苗体内多胺与渗透胁迫关系^[7]。华北大部分地区的大豆种植常受干旱影响而减产。然而, 目前尚缺乏有关水分胁迫下大豆体内多胺与渗透胁迫关系。本研究旨在进一步探讨Spd对大豆幼苗抗旱性的作用, 并为未来Spd作为外源的生长调节物质在大豆抗旱过程中的应用提供理论基础。

收稿日期: 2005- 03- 11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370850); 河南省自然科学基金(0411031500)资助

作者简介: 张 胜(1962-), 男, 硕士, 高级讲师, 主要从事植物生理研究; 刘怀攀为通讯作者。

1 材料和方法

1.1 材料处理

供试大豆品种为:抗旱性强的豫豆 24 号和抗旱性弱的豫豆 6 号(均由河南周口市农科所提供)。大豆种子经过升汞消毒,吸胀萌发催芽后,选取发芽一致的饱满种子撒播在带孔的装有石英砂的小塑料杯中培养,温室中培养,保持温度是 25℃/20℃(白天/黑夜)置于 14 h 光周期下,用金属卤化物灯进行光照,使在植物冠层保持 250 μmol/(m²·s)的光合质子通量密度。空气相对湿度在 60%~70%。用 Hoagland 培养液进行培养。待幼苗长到 2 对叶片时进行以下 5 个处理:(1)对照(Hoagland 培养液);(2)20% PEG(聚乙二醇)-6000 (-0.50 MPa)的 Hoagland 培养液;(3)20% PEG-6000 的 Hoagland 培养液+1 mmol/L MGBG;(4)20% PEG-6000 的 Hoagland 培养液+1 mmol/L MGBG+1 mmol/L Spd;(5)20% PEG-6000 的 Hoagland 培养液+1 mmol/L Spd(注:Spd 和 MGBG 均采用根基营养液处理和叶片喷施相结合)。每隔 2 d 换 1 次 Hoagland 营养液,处理 7 d 后取样本 2 对叶片。

1.2 测定方法

1.2.1 叶片相对含水量(LRWC)按称重法测定^[8]。
1.2.2 幼苗相对干重增长速率(SRDIR)按下面公式计算 SRDIR=(处理 7 d 后 10 株干重-处理前 10 株干重)/(处理前 10 株干重)。(注:定苗后,待处理前,随机抽取 3 杯,把幼苗称干重,求出每杯 10 株的平均干重,可以近似作为其他杯处理前 10 株的干重)。
1.2.3 多胺含量 游离态多胺用 Flores 和 Galston^[9]的方法进行定量分析。叶片在 5% 高氯酸(4 mL/g 鲜重)中匀浆,匀浆物在 40 000×g 离心 20 min,上清液通过阳离子交换柱(50W-X4, H⁺ form, Bio-Rad, Hercules, CA)以去除里面的氨基酸和中性物质^[8]。随后依次用 100 mmol/L 磷酸缓冲液(pH8.0)配的 0.7 mol/L NaCl、水、1 mol/L HCl 洗柱,接着用 6 mol/L HCl 把多胺洗脱。多胺作为苯甲酰基衍生物用装有 UV 检波器的 PHLC 进行分析,色谱分析中,用惰性 ODS-2(4.6×250 mm GL science, Tokyo)柱,在 1%(V/V)乙酸中,用 58%(V/V)的甲醇作为平衡洗脱剂。

2 结果与分析

2.1 渗透胁迫下外源 Spd 和 MGBG 对大豆幼苗叶

片相对含水量和幼苗相对干重增长速率的影响

从表 1 看出,渗透胁迫使两个品种幼苗的 LRWC 和 SRDIR 下降,而且豫豆 6 号的下降幅度明显大于豫豆 24 号。外源 1 mmol/L 的 Spd 处理能明显升高渗透胁迫下的豫豆 6 号幼苗的 LRWC 和 SRDIR 水平,而对豫豆 24 号的影响不大。外源 1 mmol/L 的 MGBG 处理渗透胁迫下的豫豆 24 号大豆幼苗能明显降低 LRWC 和 SRDIR 水平,同时若再加上 1 mmol/L 外源 Spd 处理,则又消除了 MGBG 的作用。

表 1 渗透胁迫下 Spd 和 MGBG 对大豆幼苗叶片相对含水量和幼苗相对干重增长速率的影响

Tab.1 Effect of Spd and MGBG on leaf relative water content and seedling relative dry weight increase rate of soybean seedling under osmotic stress			
品种 Variety	处理 Treatment	LRWC(%)	SRDIR(%) (把对照视为 100%)
豫豆 24 号	对照	98.3±1.7 a	100 a
	PEG	92.9±1.5 b	50.3±3.8 b
	PEG+1 mmol/L MGBG	85.1±1.2 d	33.3±2.8 e
	PEG+1 mmol/L MGBG+1 mmol/L Spd	90.6±1.4 bc	41.6±3.7 cd
豫豆 6 号	PEG+1 mmol/L Spd	93.2±1.4 b	52.0±3.6 b
	对照	97.9±1.8 a	100 a
	PEG	80.2±1.3 e	21.2±1.9 f
	PEG+1 mmol/L Spd	88.5±1.4 c	34.6±2.9 de

注:表中字母代表差异性显著水平分析结果 P<0.05,下同
Note: Different letters(a-f) means significantly different at P<0.05

表 2 渗透胁迫下 Spd 和 MGBG 对大豆幼苗叶片 Spd 含量的影响

Tab 2 Effect of exogenous Spd and MGBG on the content of endogenous free Spd in soybean seedling leaves under osmotic stress		
品种 Variety	处理 Treatment	内源游离态 Spd 含量 (nmol/g) Content of endogenous free Spd
豫豆 24 号	ck	75.6±7.3 e
	PEG	258.3±30.2 ab
	PEG+1 mmol/L MGBG	151.5±16.7 c
	PEG+1 mmol/L MGBG+1 mmol/L Spd	219.4±19.8 b
豫豆 6 号	PEG+1 mmol/L Spd	272.9±31.5 a
	ck	81.1±8.0 e
	PEG	119.4±16.2 d
	PEG+1 mmol/L Spd	250.8±19.9 ab

2.2 渗透胁迫下外源 Spd 和 MGBG 对大豆幼苗叶片游离态 Spd 含量的影响

从表 2 可以看出,渗透胁迫导致 2 个品种大豆幼苗叶片游离态 Spd 含量上升。但值得注意的是,豫豆 24 号上升幅度达对照的 3 倍多,而豫豆 6 号仅达对照的 1.5 倍。外源 1 mmol/L Spd 处理能明显提

高豫豆 6 号大豆幼苗叶片的内源 Spd 含量, 而对豫豆 24 号的影响较小。外源 1 mmol/L 的 MGBG 能明显降低渗透胁迫下的豫豆 24 号叶片内的 Spd 含量, 同时再加上 1 mmol/L 的 Spd 处理, 可以逆转渗透胁迫下 MGBG 对豫豆 24 号幼苗叶片的 Spd 的降低效应。

3 讨论

本试验结果表明, 渗透胁迫导致大豆幼苗叶片 LRWC 和 SRDIR 水平的下降, 且豫豆 24 号的降幅明显小于豫豆 6 号, 这更加证实了豫豆 24 号的抗干旱胁迫能力较强, 受害程度较轻, 而豫豆 6 号的受害程度较大。

我们前期的研究结果表明, 小麦幼苗体内的 Spd 有利于促进其抗渗透胁迫能力^[3]。本试验发现, 渗透胁迫导致大豆幼苗叶片的游离态 Spd 含量上升, 而且抗旱性强的豫豆 24 号的上升幅度明显大于豫豆 6 号, 这似乎暗示了豫豆 24 号的抗旱性与其内源 Spd 的含量上升有关。另外试验也发现 1 mmol/L 的外源 Spd 处理抗旱性弱的豫豆 6 号, 则能明显提高渗透胁迫下豫豆 6 号的 LRWC 和 SRDIR 水平, 说明能明显提高豫豆 6 号的抗逆能力。检测内源多胺发现, 在渗透胁迫下, 外源 Spd 处理的豫豆 6 号, 其叶片内的 Spd 含量也明显增加, 这从另一个侧面表明了 Spd 和抗渗透能力的相关性。另一批试验也发现, 若用 Spd 的生物合成抑制剂 MGBG 处理抗旱性强的豫豆 24 号, 则明显降低了其幼苗叶片在渗透胁迫下的内源 Spd 含量, 同时也加强了豫豆 24 号幼苗的 LRWC 和 SRDIR 水平的下降, 表明 MGBG 明显加重了渗透胁迫对豫豆 24 号的伤害。而在渗透胁迫和 MGBG 处理的同时, 再加上 1 mmol/L 外源 Spd 处理豫豆 24 号, 则发现伴随着幼苗叶片内的 Spd 的明显上升, 幼苗的 LRWC 和 SRDIR 水平也明显上升, 这一试验说明外源 Spd 又可以缓解渗透胁迫下 MGBG 对豫豆 24 号的伤害。总之, 以上这些试验均从不同侧面证实了 Spd 和大豆幼苗的抗渗透胁迫能力密切相关。前人试验也表明, 通过外施 Spd 显著延缓花生衰老^[10]、减缓 NaCl 对滨藜引起的伤害^[11], Rajasekaran 和 Blake^[12] 利用外源 Spd 处理干旱胁迫的松树幼苗, 可逆转由于胁迫所造成的膜的渗漏, 维持膜结构的稳定性, 并且还可使之保持较高的光合特性。Pedrol 等^[13] 发现丝绒草在受到严重干

旱胁迫时, 体内 Spd 含量急剧上升, 并且发现随着 Spd 的增加丝绒草逐渐适应了干旱胁迫而不受伤害。这些结果和本文相一致。

本试验结果表明, 大豆幼苗体内的 Spd 和抗旱性有密切关系, 并且外源 Spd 通过影响体内的 Spd 含量而提高抗旱能力, 这就启发我们探索一条用不同浓度的亚精胺作为生长调节物质来改善不同大豆品种抗旱能力的新途径。

参考文献:

- [1] 汤章城. 植物对渗透和淹水胁迫的适应机理[A]. 植物生理和分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998 739 - 751.
- [2] 山 仑. 植物高效用水的生理生态基础及其应用[A]. 中国植物生理学会全国学术年会及成立 40 周年庆祝大会上的报告[C]. 杭州, 2003.
- [3] Liu H P, Dong B H, Zhang Y Y, *et al.* Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings[J]. *Plant Science*, 2004, 166 (5): 1261- 1267.
- [4] 陈 龙, 刘怀攀, 张承烈. 芦苇愈伤组织中蛋白质对渗透胁迫和外源 ABA 的响应[J]. *华北农学报*, 2002, 17(3): 41- 45.
- [5] Tari I, Csiszar J. Effect of NO₂⁻ or NO₃⁻ supply on polyamine accumulation and ethylene production of wheat roots at acidic and neutral pH: implications for root growth[J]. *Plant Growth Regul*, 2003, 40: 121- 128.
- [6] 王 学, 施国新, 马广岳, 等. 外源亚精胺对苜蓿 Hg₂²⁺ 胁迫能力的影响[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30(2): 69 - 73.
- [7] Liu H P, Liu J, Zhang Y Y, *et al.* Relationship between ATPase activity and conjugated polyamines in mitochondrial membrane from wheat seedling roots under osmotic stress[J]. *Journal of Environmental Science*, 2004, 16 (5): 712- 716.
- [8] 龚富生, 张嘉宝. 植物生理学实验[M]. 北京: 气象出版社, 1995. 8- 9.
- [9] Flores H E, Galston A W. Analysis of polyamines in higher plants: Characterization of pyrroline dehydrogenase[J]. *Plant Growth Regul*, 1985, 3: 272 - 291.
- [10] 王晓云, 李向东, 邹 琦. 外源多胺、多胺合成前体及抑制剂对花生连体叶片衰老的影响[J]. *中国农业科学*, 2000, 33 (3): 30- 35.
- [11] 江行玉, 赵可夫, 龚君霞, 等. NaCl 胁迫下外源亚精胺和二环己基胺对滨藜内源多胺含量和抗盐性的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2001, 37(5): 6- 9.
- [12] Rajasekaran L R, Blake T J. New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of jack pine seedlings[J]. *J Plant Growth Regul*, 1999, 18: 175- 181.
- [13] Pedrol N, Ramos P, Reigosa M J. Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: A long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites[J]. *J Plant Physiol*, 2000, 157: 383- 393.