

盐胁迫对大豆膜透性、丙二醛含量及过氧化物酶活性的影响

许东河 李东艳 陈于和

(河北农业技术师范学院农学系, 昌黎 066600)

摘 要 用溶液培养的方法对抗盐性不同的两个大豆品种在盐胁迫条件下植株叶片的膜透性、丙二醛含量及过氧化物酶活性进行了研究。结果显示,随盐分浓度的增加,植株伤害加重,叶片膜透性加大,相对含水量降低,丙二醛含量增加,脂质过氧化反应加剧,过氧化物酶活性升高。其中抗盐性品种膜脂质过氧化反应水平较低,过氧化物酶活性较高。表明膜脂质过氧化是大豆盐伤害的重要原因,而较高的过氧化物酶活性则可降低这一伤害的程度。

关键词 大豆 盐胁迫 脂质过氧化

盐分对植物代谢产生多种影响,但目前对盐毒害的作用机理了解很少。A. C. 利奥波尔德等研究表明,盐可造成膜系统的损伤,引起膜渗漏,从而造成植株上的病症^[1]。近年来,人们从自由基伤害学观点来研究逆境环境对植物膜系统的影响,指出在盐渍、干旱或低温等逆境条件下,需氧植物体内活性氧代谢系统失去平衡,自由基增加^[3~6]。已经证明,自由基可导致脂类,尤其是不饱和脂肪酸的过氧化,引起细胞膜结构和功能的损伤^[3]。大量研究指出,膜脂质过氧化是低温、干旱等伤害的重要原因之一^[3,4,6]。在大豆上,未见关于盐胁迫对其膜系统的伤害的报道。鉴于此,我们对不同耐盐性大豆品种在不同盐胁迫条件下的膜透性和脂质过氧化反应进行了研究,并探讨了过氧化物酶在清除自由基、保护膜系统上的作用及其与品种抗盐性的关系,试图为明确大豆的抗盐机制,确定大豆耐盐育种的生理、生化指标提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试品种为耐盐型大豆品种“鲁豆 4 号”和盐敏感型大豆品种“铁丰 18”。

1.2 材料处理

将两品种种子催芽后,分别放入 Hoagland 营养液中于昼温 23℃、夜温 18℃, 1.0 万 lx 光照条件下培养 2 周,然后将两品种分别移入含 NaCl (w/v) 为 0.0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8% 的 Hoagland 营养液内,每缸留苗 8 株,每处理重复三次,培养一周后(条件同前)进行分析测定,分析结果按三次重复平均值计。

1.3 测试方法

1.3.1 质膜相对透性测定 取一定量不同处理叶片,放入试管内加 20ml 无离子水,于真空

干燥器内抽气 15min,再放到摇床上振荡 30min,用 DDS—11 型电导仪测其电导率(S_1),然后将试管加塞于沸水中煮 10min,冷却后再测电导率(S_2),按下式求得相对电导率(S_r)

$$S_r = (S_1/S_2) \times 100\%$$

1.3.2 丙二醛含量测定 按林植芳等(1984)的方法^[2]。

1.3.3 相对含水量测定 取一定量不同处理植株叶片称重(W_f),然后将其放入水中令其吸水 24h,用滤纸吸干其表面水分后继续称重(W_s)。称重后将材料烘干再行称重(W_d),叶片相对含水量由下式算得:

$$\text{相对含水量}\% = [(W_f - W_d) / (W_s - W_d)] \times 100\%$$

1.3.4 过氧化物酶活性测定 各处理叶片加入一定量 0.1mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5),充分研磨后,匀浆离心(8000 转/min)15min。取合适浓度酶液 1ml 加愈创木酚底物反应液 3ml,准确反应 3min,于 721 分光光度计波长 470nm 处记下光密度,酶活性以 OD470/min · ml 表示。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对大豆叶片组织的损伤

当植株受到盐胁迫后,一般均表现为叶片萎蔫、干枯、组织坏死。用叶片相对电导率即离子外渗程度来代表其质膜透性,结果表明(图 1),在低盐浓度下(<0.4‰),两品种的质膜透性差

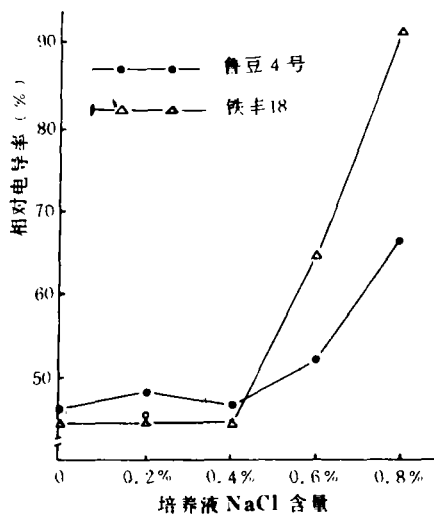


图 1 不同盐浓度下大豆叶片相对电导率的变化

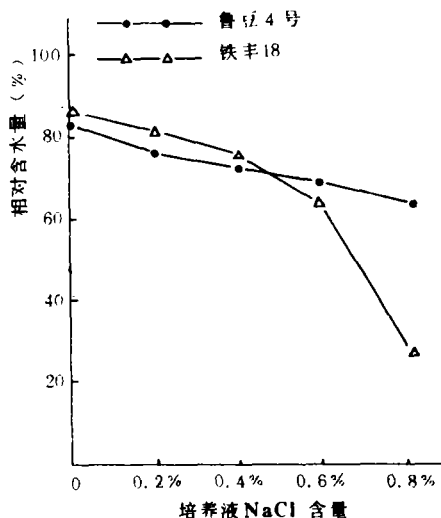


图 2 不同盐浓度下大豆叶片相对含水量的变化

异不大;随盐分浓度的继续增加,其质膜透性明显提高,其中盐敏感型品种铁丰 18 的增加幅度较大,而鲁豆 4 号增加幅度较小,经含 0.8‰NaCl 的营养液培养一周后,铁丰 18 的相对电导率为对照的 2.1 倍,而鲁豆 4 号仅为对照的 1.4 倍。

在不同盐分浓度下,供试品种叶片相对含水量变化如图2,随盐分浓度的增加,叶片相对含水量呈逐渐下降趋势。在低盐分浓度下($<0.4\%$)两品种下降幅度基本相同,而当盐分继续增加时,盐敏感型大豆品种铁丰18下降幅度大大高于鲁豆4号。众所周知,随着营养液盐分浓度的增加,其水势降低,渗透压增大,植株吸水困难。在较低盐分浓度下($<0.4\%$)两品种只是受到了相同程度的水分胁迫,而无机盐离子此时还未对植株叶片造成大的危害。但随着盐分的继续增加,不同抗盐型品种的表现开始出现差异,盐敏感型品种膜系统受无机离子严重破坏,组织坏死,失水,萎蔫甚至干枯;而抗盐型品种的受损程度则相对较轻。

从对两品种在不同盐浓度条件下叶片质膜透性和相对含水量的测试结果看出,盐胁迫对不同耐盐性品种叶片组织伤害不同。

2.2 盐胁迫对大豆叶片丙二醛含量的影响

丙二醛是膜脂质过氧化的产物,我们以丙二醛含量的高低来代表叶片膜脂质过氧化的程度。测试结果表明(图3),随盐浓度的增大供试品种丙二醛含量呈递增趋势,但在低盐浓度下($<0.4\%$)变化较平稳,而在高盐浓度下($>0.4\%$)叶片丙二醛含量则迅速增加,以铁丰18的增长幅度较大,含量较高,说明在同等盐胁迫条件下,其脂质过氧化反应水平明显高于抗盐型品种鲁豆4号。

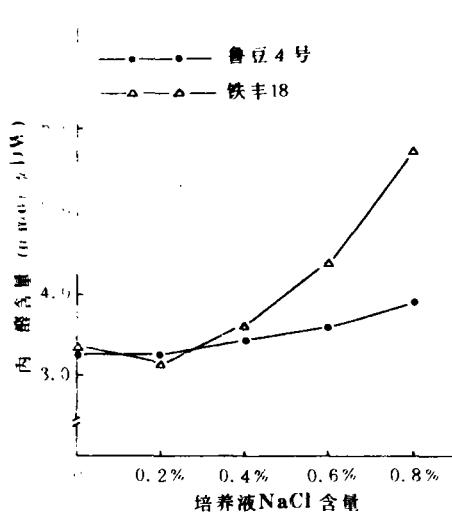


图3 不同盐浓度对大豆叶片丙二醛含量的影响

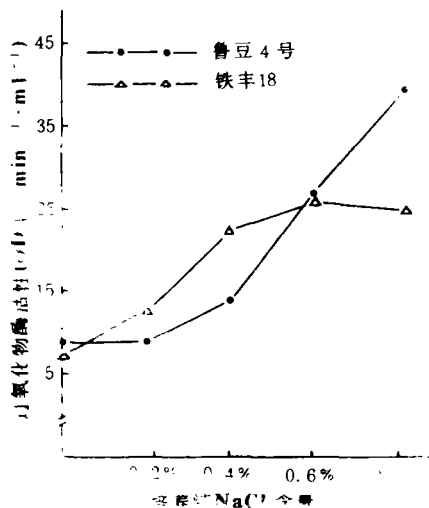


图4 不同盐浓度下大豆叶片过氧化物酶活性的变化

2.3 不同盐浓度下叶片过氧化物酶活性变化。

在盐胁迫条件下,叶片过氧化物酶活性均表现为比对照高,且随盐分浓度的增加,酶活性基本呈逐渐增强趋势(图4)。在低盐浓度下,铁丰18的过氧化物酶活性对盐分比较敏感,增加较快,但随着盐浓度的继续增加铁丰18的过氧化物酶活性保持平稳,甚至下降,而抗盐型品种

鲁豆 4 号仍以较大的幅度增长,经 0.8%NaCl 的营养液培养一周后,鲁豆 4 号叶片过氧化物酶活性明显高于铁丰 18。

3 讨论

盐胁迫可直接或间接地引起植物一系列代谢功能的变化,这些变化可以作为鉴定大豆抗盐性筛选的指标。自 McCord 和 Fridovich(1969)提出生物自由基伤害学说以来^[7],该学说已被广泛应用于研究需氧生物细胞的毒害机理,并已证明在盐渍、干旱等逆境条件下植物体内自由基增加,而自由基又可导致脂类发生过氧化,破坏膜系统。本研究结果表明,盐胁迫引起大豆叶片内部丙二醛含量增加,诱导发生脂质过氧化反应,质膜透性增大。可见高盐分的危害之一在于加剧膜脂质过氧化反应,破坏膜系统的结构和功能,使植物细胞不能维持其高度有序的结构而受伤死亡。

过氧化物酶为植物内源自由基消除剂,属于保护酶系统^[3]。逆境中植物过氧化物酶活性增强或保持较高水平,可能使生物自由基维持在一个较低的水平,从而防止自由基伤害。从本研究知道,大豆植株受到盐胁迫后,其过氧化物酶活性增加,这是植物进行自身保护的一种自然反应;但随盐分浓度的继续增加,不抗盐品种的这种自身保护能力不再增强,而抗盐品种其过氧化物酶活性仍继续增加。正是这种高的保护酶活性使得抗盐型品种在高盐胁迫下,细胞膜系统受损较轻。

当高盐分在造成植株毒害的同时,也有渗透作用发生,影响植株吸收水分,而干旱也可造成植物细胞膜系统发生脂质过氧化反应。那么本研究观测到的脂质过氧化反应究竟是盐毒害作用结果还是渗透作用结果? A. C. 利澳波尔德等用与 200mmol NaCl 等渗透值的 400mmol 山梨糖醇来处理大豆叶片,发现经 NaCl 溶液处理后叶片的渗透值为经 400mmol 山梨糖醇处理后的 4.5 倍^[1]。由此可见高盐分的毒害作用是引起膜脂质过氧化反应,破坏膜系统的主要因素。

参 考 文 献

- 1 翟凤林等. 植物的耐盐性及其改良. 北京:农业出版社,1989,125~133
- 2 林植芳等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报,1984,26(6): 605~615
- 3 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害. 植物生理学通讯,1989,(2):12~16
- 4 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. 植物生理学通讯,1991,27(2):84~90
- 5 陈少裕. 甘蔗低温胁迫与膜脂过氧化. 福建农学院学报,1992,21(1):22~26
- 6 刘友良等. 植物耐盐性研究进展. 植物生理学通讯,1987,(4):1~7
- 7 McCord JM et al. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte hemoglobin. J Biol Chem, 1969, 244: 6049~6055
- 8 Zhiron VK, Merzlyck MN. Peroxidation of membrane lipids in cold resistant plant under condition of injury caused by freezing temperatures. Sov Plant Physiol (Engl Transl), 1982, 29: 794~800

Effect of Salt Stress on the Cell Membrane Permeability, MDA Content and the POD Activity in Soybean

Xu Donghe Li Dongyan Chen Yuhe

(Hebei Agrotechnical Teachers' College, Changli)

Abstract The cell membrane permeability, MDA content and POD activity in leaves of two soybean varieties different in resistance to salt were studied under salt stress, using the solution culture method. It was found that with increase of salt concentration the damage to the plant became serious, the cell membrane permeability increased, the relative water content decreased, MDA content went up, lipid peroxidation reaction sharpened, and the POD activity strengthened. In the salt-resistant soybean varieties, on the contrary, the lipid peroxidation reaction level was lower, but the POD activity was higher. These facts indicated that the lipid peroxidation of cell membrane was one of reasons causing the soybean plant injury by the salt stress. The higher level of POD activity could reduce the injury degree.

Key words: Soybean; Salt stress; Lipid peroxidation