

不同基因型大豆叶片生理特性的研究

李永平¹, 王长发¹, 赵丽², 秦晓威¹, 任学敏¹

(1. 西北农林科技大学农学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 为揭示自然界不同基因型大豆冠层温度是否存在分异, 应用红外测温仪对 5 个大豆品种植株的冠层温度进行了长期观测, 并同步测定了大豆主茎功能叶片的绿叶百分率、可溶性蛋白质含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、丙二醛(MDA)含量。结果表明, 自然界存在冠层温度偏低的低温大豆种质即冷型大豆(如汾豆 55、冀 NF58)和冠层温度偏高的高温大豆种质即暖型大豆(如东大 2 号、渭豆 20)。在整个籽粒灌浆期, 冷型大豆绿叶百分率、可溶性蛋白质含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性均比暖型大豆优越, 丙二醛(MDA)含量随生育期的推移积累速度也较暖型大豆明显慢。由此认为不同基因型大豆冠层温度存在分异, 且温度型与功能叶片衰老特性的优劣有着紧密的联系。

关键词: 冠层温度; 冷型大豆; 暖型大豆; 衰老特性

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2009)01-0173-05

20 世纪 60 年代红外测温技术逐渐介入了植物温度的研究^[1], 由于这种测量技术具有速度快、灵敏度高且误差较小的特征, 因而较快地在农业研究的多个方面发展起来, 随着先进红外测温技术的进一步应用, 国内外学者陆续在禾本科、豆科、茄科等一些植物中发现了低温种质材料^[2~5], 这些材料的显著特征是植株温度持续偏低并伴有一些优良性状, 从而引起学术界的重视。其中小麦研究得最多也最为深入, 张嵩午等^[6~8]较为全面、系统地揭示了小麦低温材料在氮代谢、碳代谢、水分代谢以及活性氧代谢等方面所具有的优良特性, 还阐明了它在干旱、雨涝、高温等不利环境胁迫下的抗逆能力, 尤其还对小麦冠层温度的状态进行了分型。关于大豆研究, 国外虽有一些报道, 但较为零散, 且内容主要集中在冠层温度对大豆育种的研究方面, 对不同冠层温度大豆生物学性状尤其叶片衰老特性则缺乏较为系统的研究。本文拟通过不同基因型大豆冠层温

度的差异, 分析大豆植株温度的分异状况, 调查不同温度型大豆功能叶片衰老特性的差异, 以为大豆育种和栽培提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选用群体冠层温度方面具有代表性的 4 个大豆品种——汾豆 55、冀 NF58、94101、渭豆 20 号作为试验材料(表 1)。依据张嵩午等^[5~7]在小麦上提出的不同温度类型的分类方法, 并依据对大豆冠层温度的观测数据, 把大豆品种汾豆 55、冀 NF58、东大 2 号、渭豆 20 的冠层温度与秦豆 8 号(对照)冠层温度作差值比较, 得出冠层温度持续偏低者为冷型大豆; 冠层温度持续偏高者为暖型大豆。参试品种生育期均在 135 d 左右, 属亚有限结荚习性。对照品种秦豆 8 号是当地生产上长期起骨干作用的品种。

表 1 参试品种(系)及选育单位

Table 1 Tested varieties and their breeding institutions

品种 Varieties	选育单位 Breeding institution
汾豆 55 Fendou 55	山西省农业科学院 Shanxi Academy of Agricultural Sciences
冀 NF58 Ji NF58	河北省农林科学院 Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences
秦豆 8 号 Qindou 8	陕西省农垦科研中心 Agricultural Reclamation Scientific Research Center of Shaanxi Province
东大 2 号 Dongda 2	山西省临县李东农作物研究所 Lidong Crop Institute, Linxian County, Shanxi Province
渭豆 20 Weidou 20	未知 Unknow

收稿日期: 2008-07-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370859)

作者简介: 李永平(1979—), 男, 内蒙古集宁市人, 在读博士, 主要从事作物生理生态的研究。E-mail: liyongping791003@yahoo.com。

通讯作者: 王长发(1967—), 男, 河北南宫人, 副教授, 博士, 主要从事作物种质资源与生态生理研究。E-mail: wangchangfa@163.com。

1.2 试验设计

试验于 2005~2006 年在渭河谷地头道塬的西北农林科技大学农作一站进行,该地为暖温带半湿润气候。试验地前作空茬,肥力达到当地中上等水平。采用随机区组设计,重复 3 次,每小区 6 行,行长 3.0 m,行距 0.5 m,株距 0.1 m。两年均于 4 月下旬人工开沟带尺点播。播前按尿素 375 kg/hm²、磷肥 750 kg/hm² 一次性施足底肥。田间管理按当地品种比较试验要求进行。

1.3 观测记载

冠层温度的观测用 BAU-I 型红外测温仪进行,其分辨率为 0.1℃,精度为常温±0.2℃,响应时间 2~3 s,视场角为 5°。观测时间以晴天午后(13:00~15:00)各品种冠层温度差异最明显时为主,并辅以从早到晚的连续观测,按照农田小气候观测的对称法进行。测量时选择植株群体生长均匀一致且具代表性部位观测,并小心避开裸地的影响。为确保测定结果的可靠性,对每个品种的 3 次重复进行往返观测后以其 6 个温度的平均值作为当日冠层温度的观测值。

绿叶百分率的观测是在每小区选定 4 株具有代表性的植株挂牌标记,从大豆结荚期开始逐日统计每小区 4 株大豆所有叶片的绿叶数,然后对每株大豆所有绿叶数求其加权平均数。

叶片可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 蛋白染色法^[9]测定,叶片超氧化物歧化酶

(SOD)活性测定参照王爱国等^[10]的改进方法,叶片过氧化氢酶(CAT)活性用 Beers 和 Sizars 改进法^[11]测定,叶片丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法^[12]。测定时间从开花期(6月下旬)开始,每隔 10 d 测定 1 次(雨天顺延),直到灌浆结束。上述测定于晴天上午 9:00~10:30 取大豆主茎功能叶片进行。功能叶片选取方法:开花期至成熟期是从顶部展开叶往下数第二个三出叶为功能叶;成熟期至停止生长是从顶部展开叶往下数第三个三出叶为功能叶^[13]。

1.4 统计分析

数据应用大型分析软件 SAS8.01 分析完成^[14]。

2 结果与分析

2.1 不同基因型大豆冠层温度变化

2.1.1 冠层温度日变化 通过对 5 个大豆品种开花后各关键生育时期全天的冠层温度进行观测,由图 1 的 a 和 b 可知,冠层温度从早到晚总的变化趋势是先上升后下降,上午随着太阳辐射的增强冠层温度逐渐升高,而且上升幅度较大,但各品种间差异不很明显,接近中午,品种间的差距逐渐拉开,午后更甚,尤其以约 13:00~15:00 最为明显,以后品种间冠层温度差别趋于缩小,故晴天午后 13:00~15:00 左右是观测冠层温度的最佳时段。

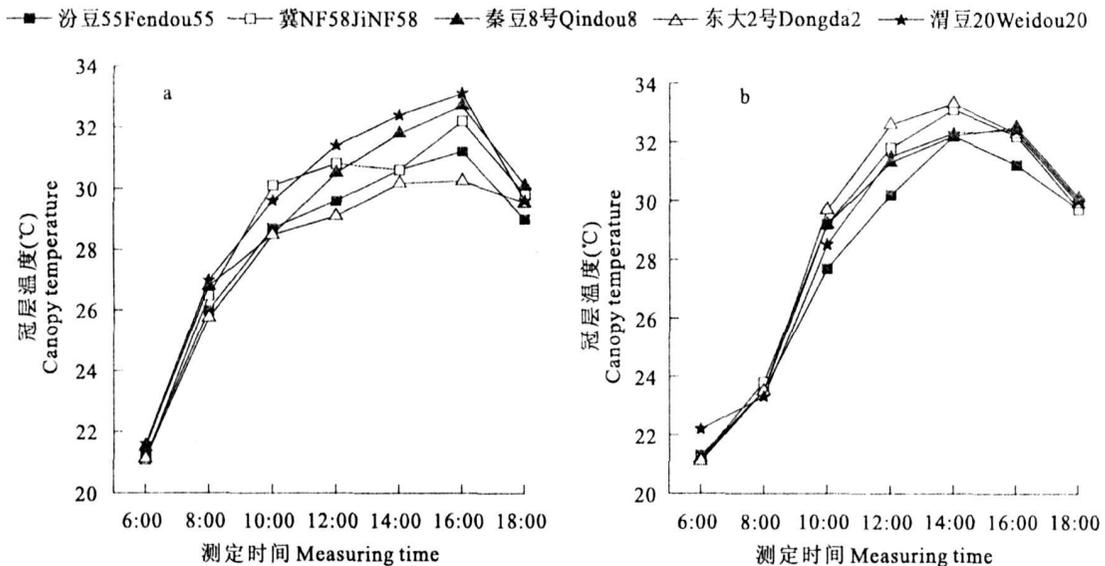


图 1 不同基因型大豆冠层温度日变化

Fig.1 Daily change of canopy temperature of different soybean genotypes

注:a:开花期;b:灌浆期。Note:a: Flowering stage; b: Grain filling stage.

2.1.2 冠层温度分异现象 表 2 是连续两年(2005 年和 2006 年)不同基因型大豆冠层温度的动态变化

情况。由表 2 可以看出,与对照秦豆 8 号相比,汾豆 55、冀 NF58 的冠层温度在灌浆结实阶段具有持续偏低的特征,属于冷型大豆,东大 2 号、渭豆 20 具有持续偏高的特征,属于暖型大豆,两年结果完全相

同。作者特定义籽粒灌浆结实期间冠层温度和对照品种相当或持续偏低者为冷型大豆,汾豆 55 和冀 NF58 即为此型;冠层温度比对照品种持续偏高者为暖型大豆,东大 2 号和渭豆 20 即为此型。

表 2 2005~2006 年不同基因型大豆冠层温度变化(°C)

Table 2 Change of canopy temperature of different soybean genotypes in 2005~2006

年份 Year	品种 Varieties	日序(次) Order in days(Times)																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
2005	汾豆 55 Fendou 55	-0.6	-0.5	-0.6	-0.5	-0.7	-0.9	-0.9	-0.8	-0.6	-0.4	-0.2	-0.2	-0.4	-0.5	-0.7	-0.5	-0.4
	冀 NF58 Ji NF58	-0.3	-0.4	-0.4	-0.5	-0.5	-0.3	-0.4	-0.0	-0.0	-0.3	-0.3	-0.5	-0.4	-0.3	-0.5	-0.4	-0.3
	秦豆 8 号 Qindou 8	30.2	30.4	30.6	31.0	31.0	30.4	31.0	28.5	29.3	26.8	25.0	27.0	27.9	25.9	28.5	29.7	33.3
	东大 2 号 Dongda 2	+0.3	+0.1	+0.0	+0.1	+0.2	+0.2	+0.2	+0.3	+0.3	+0.2	+0.3	+0.1	+0.0	+0.1	+0.3	+0.1	+0.3
	渭豆 20 Weidou 20	+0.1	+0.2	+0.0	+0.2	+0.3	+0.1	+0.2	+0.2	+0.1	+0.2	+0.0	+0.1	+0.3	+0.3	+0.2	+0.2	+0.1
2006	汾豆 55 Fendou 55	-0.6	-0.6	-0.6	-0.7	-1.0	-0.8	-0.7	-0.5	-0.3	-0.3	-0.5	-0.6	-0.6	-0.6	-0.4	-0.0	-0.4
	冀 NF58 Ji NF58	-0.1	-0.1	-0.3	-0.5	-0.4	-0.6	-0.5	-0.4	-0.3	-0.6	-0.3	-0.0	-0.0	-0.5	-0.3	-0.4	-0.4
	秦豆 8 号 Qindou 8	31.8	28.3	31.7	28.8	31.1	26.0	32.3	32.3	34.7	31.7	35.4	29.8	27.8	29.6	32.2	31.2	36.7
	东大 2 号 Dongda 2	+0.2	+0.2	+0.0	+0.2	+0.3	+0.3	+0.2	+0.0	+0.3	+0.3	+0.1	+0.2	+0.3	+0.0	+0.1	+0.3	+0.4
	渭豆 20 Weidou 20	+0.2	+0.3	+0.3	+0.1	+0.0	+0.0	+0.2	+0.3	+0.2	+0.2	+0.1	+0.1	+0.0	+0.3	+0.4	+0.2	+0.2

注:秦豆 8 号(CK)数值为实测冠层温度,其余品种数值为品种与对照的差值。

Note: The data of Qindou 8(CK)are measured temperature, and those of other varieties are difference value compared to CK.

2.2 不同基因型大豆叶片衰老特性研究

2.2.1 绿叶百分率的动态变化

绿叶百分率指结荚期到叶片枯亡日数与结荚期到籽粒成熟期日数的比值(相对值),它从一个侧面反映了结实期叶片的活力^[15,16]。由图 2 看出,随着成熟期的推进,各大豆品种间的绿叶百分率均在下降,但冷型大豆汾豆 55 和冀 NF58 的绿叶百分率皆优于对照,且比暖型大豆东大 2 号和渭豆 20 更优,尤其距离成熟期越近表现越明显。这说明,功能绿叶作为最重要的源,汾豆 55、冀 NF58 更具活力,为籽粒充实提供了较好的物质基础。

2.2.2 可溶性蛋白质含量的变化

由图 3 可知,大豆开花后,各品种可溶性蛋白质含量均随时间的推移呈下降趋势,但汾豆 55 和冀 NF58 处于最高位,秦豆 8 号居中,东大 2 号和渭豆 20 位于最低位。经差异显著性检验: $P=0.0003<0.01$,达到极显著水平,故冷暖型品种间存在极显著差异。

2.2.3 SOD 活性的变化

从图 4 看出,随着发育

的推移,各品种 SOD 活性总的趋势先上升后下降。从开花期 6 月 28 日~7 月 18 日,汾豆 55 和冀 NF58 SOD 活性与对照秦豆 8 号基本均衡,但高于东大 2 号和渭豆 20,7 月 18 日,各品种间均达到高峰,7 月 18 日到灌浆结束,汾豆 55 和冀 NF58 一直居高位。经差异显著性检验: $P=0.0001<0.01$,达到极显著水平,故冷暖型品种间存在极显著差异。

2.2.4 CAT 活性的变化

由图 5 看出,不同基因型大豆品种 CAT 活性表现为由低到高,然后急剧下降。开花期 6 月 28 日~7 月 18 日,各品种均呈上升趋势,7 月 18 日,CAT 活性达到最大,继而又开始下降。冷型大豆汾豆 55、冀 NF58 在整个生育期间平均活性分别为 $751.35 [u/(g \cdot min)]$ 和 $714.22 [u/(g \cdot min)]$,暖型大豆东大 2 号、渭豆 20 平均活性分别为 $571.37 [u/(g \cdot min)]$ 和 $577.37 [u/(g \cdot min)]$,冷型大豆比暖型大豆平均高 $158.42 [u/(g \cdot min)]$ 。经差异显著性检验: $P=0.0001<0.01$,达到极显著水平,故冷暖型品种间存在极显著差异。

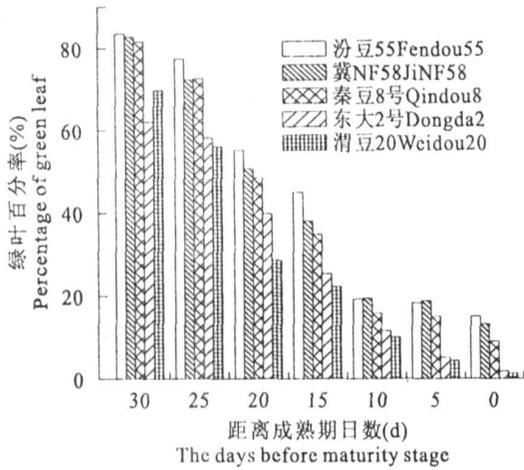


图 2 不同基因型大豆叶片功能期的动态变化

Fig.2 Leaf functional periods of different soybean genotypes

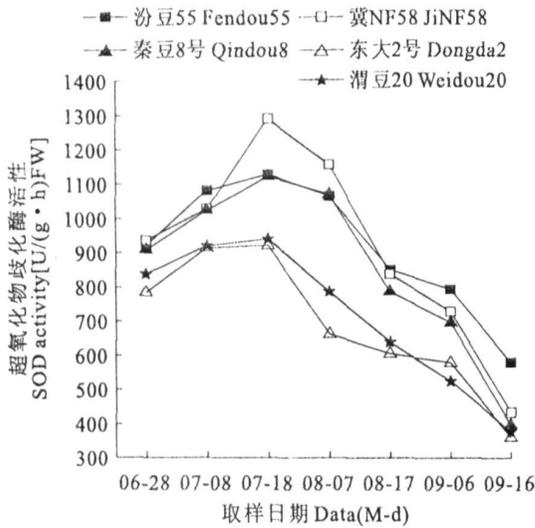


图 4 不同基因型大豆 SOD 活性变化

Fig.4 Change of SOD activity of different soybean genotypes

2.2.5 MDA 含量的变化 图 6 表明,各品种 MDA 含量随着生育期的推移,均呈明显上升趋势,这反映了植株生理活性趋于衰退的基本事实。但是,衰退的快慢有显著差异,汾豆 55 和冀 NF58 衰退最慢,秦豆 8 号居中,东大 2 号和渭豆 20 最快。经差异显著性检验: $P=0.0001 < 0.01$, 达极显著水平,故冷、暖型品种间存在极显著差异,这与前面所述结论相呼应。

3 讨论

本文通过对不同基因型大豆冠层温度和生理性状的研究表明,不同基因型大豆冠层温度存在分异,且晴天后 1:00~3:00 是观测冠层温度的最佳时段,其他研究者也表达了类似的看法^[17~19],并有冷

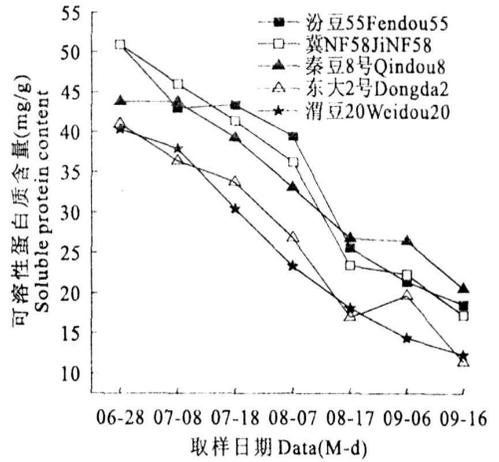


图 3 不同基因型大豆可溶性蛋白质含量变化

Fig.3 Change of soluble protein content of different soybean genotypes

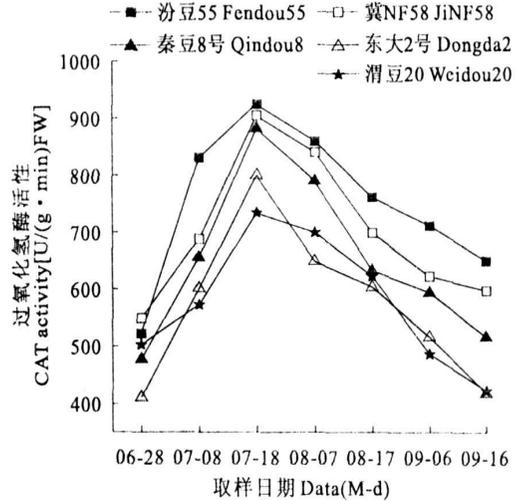


图 5 不同基因型大豆 CAT 活性变化

Fig.5 Change of CAT activity of different soybean genotypes

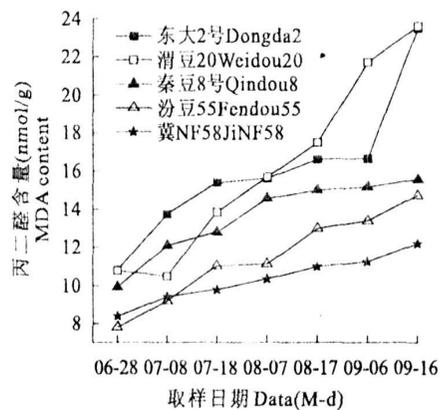


图 6 不同基因型大豆 MDA 含量变化

Fig.6 Change of MDA content of different soybean genotypes 型和暖型大豆之分。冷型大豆表现为绿叶百分率较大、可溶性蛋白质含量较高、超氧化物歧化酶活性

(SOD)和过氧化氢酶活性(CAT)较强、丙二醛(MDA)含量随生育期的推移积累速度较慢等优良特征。

大豆冠温所以冷暖有别,主要与大豆茎、叶、果实组成的活动层内的能量分配密切相关。冷型大豆在灌浆结实期间蒸腾旺盛且持续时间较长,因而从活动层热量平衡方程式 $R = P + B + LE + IA + QT + QA$ ^[20] 可看出,净辐射 R 的能量大部分消耗于蒸腾潜热 LE 上,则加热叶片和株茎的能量 QA 和 QT 必然较少,这导致冠层温度偏低;相反,暖型大豆的蒸腾较弱且持续时间较短,这使净辐射 R 分配于蒸腾潜热 LE 的能量明显减少,则使分配于 QA 和 QT 的能量明显增多,这导致冠层温度偏高。在地面辐射方面:冷型大豆材料蒸腾速率高于暖型大豆材料,使作物层净辐射能量消耗于农田蒸散的能量较多,而用于加热空气、土壤和植株本身的能量较少,使冷型材料和暖型材料冠层内热量分配出现明显差异,冷型大豆群体地面温度偏低,放射长波辐射的能力较弱,对冠层的加热作用不强,且本身的蒸腾较为旺盛,带走热量较多,导致冠层温度偏低,而暖型大豆与此相反。植株蒸腾的强弱并不是一种孤立的生理现象,它和植株体内一系列代谢过程紧密相连,因而,从本质上看,植株冠温的高低是植株总的活力高低的一种反映,因而,冷型大豆冠温偏低在相当程度上是代谢功能较好的外部信号,这是有重要指示意义的。

鉴于上述,研究大豆冠温,其实质是研究大豆植株内部的生理特征和衰老情况,冠温的高低,代表着群体活力的强弱,这就为选育优良大豆品种时人为的观测、判断、选择提供了更为准确的信息,将感性认识进行量化,以数字为依据,从而打破了历史上长久以人为观测、依靠经验等一系列繁琐程序。这样既节省人力、物力和财力,同时更重要的是节约了大量的时间。但是,大豆产量的提高是诸因子综合作用的结果,固然植株冷性化十分重要,和单位面积上总的较大的库容的结合亦不容忽视,只有实现两者的联姻,并注意病虫害的防治及防倒伏等,大豆产量才有可能出现新的、更大的提升。

参考文献:

[1] Tanner C B. Plant temperature[J]. Agronomy Journal, 1963, 55:

210—211.

- [2] Rashid A, Stark J C, Tanveer A, et al. Use of canopy temperature measurements as a screening tool for drought tolerance in spring wheat [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 1999, 182(4): 231—238.
- [3] Reynolds M P, Fischer R A, Balota M, et al. Physiological and morphological traits associated with spring wheat yield under hot irrigated conditions [J]. Australian Journal of Plant Physiology (Australia), 1994, 21(6): 717—730.
- [4] 张嵩午. 小麦冷域问题[J]. 中国农业气象, 1991, 12(2): 1—6.
- [5] 张嵩午, 王长发. 冷型小麦及其生物学特征[J]. 作物学报, 1999, 25(5): 608—615.
- [6] 张嵩午. 小麦群体的第二热源及其增温效应[J]. 生态学杂志, 1990, 9(2): 1—6.
- [7] 冯佰利, 王长发, 苗芳, 等. 干旱条件下冷型小麦气体交换特性研究[J]. 麦类作物学报, 2001, 21(4): 48—51.
- [8] 张宾, 冯佰利, 韩媛芳, 等. 干旱条件下冷型小麦叶片衰老特性研究[J]. 干旱地区农业研究, 2003, 21(1): 70—73.
- [9] 西北农业大学. 基础生物化学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1986: 66—69.
- [10] 王爱国, 罗广华, 邵从本, 等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77—83.
- [11] 施特尔马赫. 酶的测定方法[M]. 钱嘉渊译. 北京: 中国轻工业出版社, 1992: 186—194.
- [12] 高俊风. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 世界图书出版社, 2000: 196—197.
- [13] 吉林省农业科学院. 中国大豆育种与栽培[M]. 北京: 农业出版社, 1987: 70—71.
- [14] 胡小平, 王长发. SAS 基础及统计实例教程[M]. 西安: 西安地图出版社, 2001: 77—78.
- [15] 张嵩午, 王长发. 小麦潜在库容研究[J]. 西北农业学报, 1999, 8(2): 16—19.
- [16] 许秀娟, 张嵩午. 冷型小麦灌浆期农田热量分配状况初探[J]. 中国生态农业学报, 2002, 10(4): 40—43.
- [17] Blum A, Shpiler L, Golan G, et al. Yield stability and canopy temperature of wheat genotypes under drought stress [J]. Field Crops Research, 1989, 22(4): 289—296.
- [18] Golestani A S, Ssard M T. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat [J]. Euphytica, 1998, 3(3): 293—299.
- [19] 刘学著, 张连根. 不同水分胁迫条件下冬小麦冠层温度日变化差异性研究[J]. 北京农业大学学报, 1994, 20(2): 229—232.
- [20] 中国农业百科全书编辑委员会. 中国农业百科全书农业气象[M]. 北京: 科学出版社, 1986: 154—155.

(英文摘要下转第 194 页)

- Aust J Plant Physiol, 1986, 13, 659—668.
- [10] Wood K V, Stringham K J, Smith D L, et al. Betaines of alfalfa: characterization by fast atom bombardment and desorption chemical ionization mass spectrometry[J]. Plant Physiol, 1991, 96, 892—897.
- [11] 赵勇, 翁跃进, 杨春丽. 盐处理下植物组织中甜菜碱和脯氨酸的 HPLC—ESI—MS 分析[J]. 分析测试学报, 2004, 23(6): 83—86.
- [12] 高雁, 李春, 娄恺. 阳离子交换树脂对甜菜碱的吸附特性研究[J]. 生物技术, 2007, 10(5): 42—45.
- [13] 上海市科学技术交流站. 正交试验设计法[M]. 上海: 上海人民出版社, 1975.
- [14] 徐仲安, 王天宝, 李常英. 正交试验设计法简介[J]. 科技情报开发与经济, 2002, 5: 149—151.
- [15] 陈少良, 毕望富, 李金克. 反相 HPLC 离子对色谱法测定植物组织中的甜菜碱[J]. 植物学报, 2000, 42(10): 1014—1018.

The determination of Betaines in wheat seedings under drought stress by RP—HPLC

MA Yu, JIANG Bin, WANG Qing-li, ZHANG Lin-sheng*

(College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: We used the different wheat seedings which were planted on the condition that water is restricted and resupply. The concentrated betaine samples were purified by passing through the ion-exchange resin. We used the Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography technology to determine the change of betaine content. In the HPLC system, the buffer is 0.05 M sodium phosphate (pH 4.45), the column was kept at 28°C and the flow rate was 0.6 mL/min, the samples was determined at 192 nm wavelength. Besides, we optimized the factors, such as temperature, time and ion pair. During both the PEG-induced drought stress and water resupplied process, the amount of betaine increased at first and reduced latter. A great deal of Betaine accumulated in the anti-drought type wheat in a short time. This result showed that the synthesis of betaine have close connection with anti-drought plant. This method was exact, sensitive and convenient, as well provided a basis for anti-drought mechanism and the wheat breeding work.

Key words: wheat seedings; drought stress; betaine; reverse phase HPLC

(上接第 177 页)

Study on physiological characteristics of different genotypes soybean leaf

LI Yong-ping¹, WANG Chang-fa¹, ZHAO Li², QIN Xiao-wei¹, REN Xue-min¹

(1. College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to find out whether difference exists in canopy temperature of soybean of different genotypes, infrared radiation thermometer was used to determine the soybeans canopy temperatures of five varieties for a long time, at the same time, determination was also made of percentage of green leaf, soluble protein content, SOD activity, CAT activity and MDA content of the functional leaves of soybean caulis in the periods of duration. The results showed that there were soybean germplasm of low canopy temperature and soybean germplasm of high canopy temperature, the cold soybean Fendou 55 and Ji NF 58, the warm soybean Dongda 2 and Weidou 20, for examples. During the whole seed filling-time, the percentage of green leaf, soluble protein content, SOD activity, CAT activity of cold soybean were superior to warm soybeans and the accumulation of MDA content was obvious slower with process of period of duration. According to these it is thought that difference phenomenon exists in canopy temperature of different genotype soybeans and the relation between temperature type and quality of senescence characters of leaf function was close, which could offer academic base for high yielding and dependable cropping of soybean.

Key words: canopy temperature; cold type soybean; warm type soybean; senescence characteristics