

外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗 生理及产量的影响

项洪涛¹, 李 琬¹, 郑殿峰^{2,3}, 王诗雅³, 何 宁¹,
王曼力¹, 王彤彤¹, 杨纯杰¹, 李 博¹

(1. 黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 广东海洋大学滨海农业学院, 广东 湛江 524088;
3. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘 要:在盆栽条件下,以耐冷性不同的 2 个小豆(*Vigna angularis*)品种龙小豆 4 号(耐冷型)和天津红(冷敏型)为材料,于苗期在人工气候室进行低温(4℃,持续 12 h)及预喷施外源脱落酸(abscisic acid, ABA)处理,旨在研究苗期低温胁迫下外源 ABA 对小豆叶片逆境生理指标(H_2O_2 、丙二醛(MDA)、抗氧化酶活性、可溶性物质)和产量因子的调控效应。结果表明:幼苗期低温处理 12 h 后,龙小豆 4 号和天津红小豆叶片 H_2O_2 含量分别提高 34.82% 和 27.10%;MDA 含量分别提高 65.56% 和 83.79%;SOD 和 POD 活性分别提高 6.67% 和 18.48%、45.53% 和 102.44%;脯氨酸含量分别提高 33.12% 和 24.41%。低温处理导致龙小豆 4 号百粒重下降 2.58%,与喷施清水相比,低温处理 12 h 后天津红的单株荚数和百粒重分别下降 18.55% 和 10.61% ($P<0.05$)。喷施外源 ABA 具有抵御低温的作用,外源 ABA 促进龙小豆 4 号和天津红叶片脯氨酸含量提高 9.13% 和 19.76%; H_2O_2 含量降低 7.63% 和 8.36%;MDA 含量降低 10.18% 和 20.27%;SOD 和 POD 活性分别提高 9.06% 和 13.57%、8.26% 和 28.51%,同时百粒重分别提高 8.56% 和 8.92%。低温胁迫下,不同品种小豆的生理应激存在显著差异;喷施外源 ABA 能够有效缓解低温胁迫对小豆的伤害。

关键词:小豆幼苗;ABA;低温胁迫;生理指标;产量

中图分类号:S521;S311 **文献标志码:**A

Effects of exogenous ABA on cold resistance physiology and yield of adzuki bean seedlings under low temperature stress

XIANG Hongtao¹, LI Wan¹, ZHENG Dianfeng^{2,3}, WANG Shiya³, HE Ning¹,
WANG Manli¹, WANG Tongtong¹, YANG Chunjie¹, LI Bo¹

(1. Institute of Crop Cultivation and Tillage, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China;
2. College of Coastal Agriculture Sciences, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China;
3. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agriculture University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: In order to investigate the difference in the resistance physiology and yield of adzuki bean seedlings, and the mitigation effect of exogenous ABA pretreatment under low temperature, a pot experiment in this research was conducted in an artificial climate chamber. The crop cultivars including cold tolerant and cold sensitive separately were Longxiaodou 4 (LXD 4) and Tianjinhong (TJH). The treatment of low temperature (4℃) and foliar spraying exogenous ABA in seedling period of adzuki bean were applied. The time of low temperature in the experiment last for 12 h. The purpose was to analyze the effect of exogenous ABA pretreatment under low temperature on the anti-stress physiological indexes (H_2O_2 , malonaldehyde (MDA), antioxidant enzyme activity, soluble sub-

收稿日期:2020-03-02

修回日期:2020-10-13

基金项目:黑龙江省农业科学院农业科技创新跨越工程杂粮杂豆科技创新专项(HNK2019CX05-12);国家自然科学基金面上项目(31871576);国家食用豆产业技术体系项目(CARS-08-04B)

作者简介:项洪涛(1982-),男,黑龙江呼兰人,副研究员,主要从事作物逆境生理及冷害机制研究。E-mail:xianght@163.com

stances) and yield factors of adzuki bean. The results showed that the H_2O_2 content in leaves of LXD 4 and TJH increased by 34.82% and 27.10% after 12 h of low temperature treatment at the seedling stage. The MDA content increased by 65.56% and 83.79%; SOD and POD activities increased by 6.67% and 18.48%, 45.53% and 102.44%; and the proline content increased by 33.12% and 24.41%, respectively. Low temperature treatment caused the 100-seed weight of LXD 4 to decrease significantly by 2.58%, and the number of pods and 100-seed weight of TJH decreased significantly by 18.55% and 10.61% ($P<0.05$), respectively. Exogenous ABA had the effect of resisting low temperature. Compared with water, spraying exogenous ABA increased the proline content of LXD 4 and TJH by 9.13% and 19.76%; MDA content decreased by 10.18% and 20.27%; SOD and POD activities increased by 9.06% and 13.57%, 8.26% and 28.51% after 12 h of low temperature treatment. In addition, the yield component (100-seed weight) of LXD 4 and TJH increased 8.56% and 8.92%, respectively. This study concluded that there were significant differences in physiological responses among different adzuki bean varieties, and spraying exogenous ABA effectively relieved damage of low temperature stress to adzuki bean, which provides a theoretical basis for further study on the physiological mechanism against low temperature injury and increases the yield of adzuki bean under low temperature.

Keywords: adzuki bean seedlings; ABA; low temperature resistance; physiological index; yield

小豆(*Vigna angularis*),又名红豆、赤小豆、红小豆等,是豆科豇豆属一年生草本植物,属药食兼用作物。小豆对环境的适应性很强,在瘠薄地、盐碱地、干旱地均可生长,是喜温喜光不耐冷、短日照作物,在东亚地区有较长的栽培历史^[1]。温度是作物生长的重要环境条件,每种植物都有其独特的最佳生育温度,小豆对温度条件较为敏感,最适生育温度是20℃~24℃,低于该温度即发生低温胁迫甚至产生冷害^[2]。低温在植物生长的不同时期均可能发生,并对农业可持续发展造成严重威胁^[3]。小豆因其遗传特性,子叶不出土,所以在种子萌发和幼苗建植期活力较弱,对低温的抵御和适应能力差,更容易受到低温伤害。低温影响植物生长和代谢,使植株体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)自由基大量积累,植物通过体内的防御机制能够清除一部分 ROS,但未被及时清除的 ROS 积累在植物体内,加剧植物细胞膜脂过氧化伤害,并对细胞膜系统产生损害^[4],破坏作物正常的理化代谢功能和途径,最终造成作物减产。

植物内源激素调控植物的生长及对逆境的应答^[5]。ABA 是 20 世纪 60 年代发现和鉴定出的一种植物内源激素,在植物对胁迫耐受性和抗性中发挥着重要作用。外源激素通过改变内源激素水平调节植物生理代谢,低温胁迫下外源 ABA 能够促进植物体内 ABA 的合成和运输^[6],进而调控植物的抗逆性。项洪涛等^[7]研究得出,外源 ABA 能够提高低温胁迫下植物体内 SOD、POD 以及 CAT 的活性,并可同时提高脯氨酸、可溶性糖等可溶类物质的含量,抵御低温伤害。李平等^[8]研究得出低温条件下

外源 ABA 能够降低黄瓜叶片内 MDA 的积累,缓解胁迫。冯彦等^[9]研究得出,外源 ABA 能提高油菜种子的抗氧化酶活性,同时减缓膜质过氧化物 MDA 的积累,具有提高作物抗寒性的诱导效应。Xiang 等^[10]研究表明,低温条件下外源 ABA 能提高水稻叶片内脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量,有效提高 SOD、POD 和 CAT 活性,增强水稻的抗冷性。蒲高斌等^[11]研究得出低温胁迫下外源 ABA 能有效提高西瓜幼苗叶片中 SOD 和 CAT 活性、降低 MDA 的积累,维持膜的完整性,同时促进渗透保护物质脯氨酸和可溶性糖的增加,增强植株的抗寒性,同时也表明这是外源 ABA 有效提高西瓜幼苗抗冷性、减轻低温对西瓜苗伤害的主要生理基础。但鲜有关于外源 ABA 提高小豆幼苗抗性的报道。叶片是小豆重要的光合器官,起到合成并供给同化产物的重要作用,当小豆受到低温胁迫时,叶片的光合能力首先会受到影响,对养分供给、生理代谢都会产生阻碍并影响幼苗建植,最终导致产量下降。本试验于幼苗期对小豆进行低温处理,开展低温胁迫下 ABA 对小豆叶片抗逆生理及产量的影响研究,旨在分析外源 ABA 抵御小豆苗期低温的作用,丰富东北地区小豆抗冷技术工程体系,为小豆耐冷栽培、高产优质生产提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小豆试验品种选用龙小豆 4 号和天津红。龙小豆 4 号为耐冷品种,天津红为冷敏品种。供试材料由国家食用豆产业技术体系芸豆育种岗位专家魏

淑红研究员馈赠。

供试植物外源激素为 ABA,由国家食用豆产业技术体系栽培生理岗位实验室提供。

1.2 试验设计

试验于 2019 年 4 月 30 日和 5 月 25 日在黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所盆栽场及人工气候室内进行接种,开展 2 次重复性试验,由于 2 次试验规律一致,本研究选用 4 月 30 日播种试验所测数据。采用盆栽方式,试验用盆高 30 cm、直径 25 cm,每盆装自然风干壤土 7.0 kg,播种后覆土 200 g,每盆保苗 15 株(5 穴×3 株)。试验用土取自哈尔滨市道外区民主乡,土壤类型为草甸黑土。供试土壤的理化性质:土壤容重约为 1.72 g·cm⁻³,最大田间持水量约为 25.65%,有机质含量 26.3 g·kg⁻¹、全氮 1.46 mg·g⁻¹、全磷 0.66 mg·g⁻¹、缓效钾 325.7 mg·kg⁻¹、碱解氮 0.165 g·kg⁻¹、速效磷 41.25 mg·kg⁻¹、速效钾 156.7 mg·kg⁻¹、土壤 pH 6.69。4 月 18 日播种(阳光型人工气候室内播种,哈尔滨地区 4 月中旬室外温度相对偏低,不利出苗),每品种分别播种 75 桶,选取长势均匀的样本进行试验,试验共设 6 个处理,每个处理设 3 次重复,具体设计见表 1。待植株生长至幼苗期时(4 月 30 日,此时真叶完全展开,第一片复叶露头)进行低温处理,处理温度为恒定 4℃。进行低温处理当天上午 10:00,采取叶面喷施方式施用外源 ABA,使用浓度为 20 mg·L⁻¹(该浓度系课题组前期浓度比较试验所得),折合用液量为 22.5 mL·m⁻²。喷施完毕后,于当晚 20:30 进入事先预冷的人工气候室冷房内进行低温处理,持续时间为 12 h,CK 处理温度为人工气候室内自然温度(当日夜间温度为 17℃),次日上午 8:30 停止低温处理。并进行第一次取样,之后每天上午 8:30 取样,共取样 5 次,记为取样第 1~5 天。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 取样方法 低温处理后,连续取样 5 次,每天上午 8:30 取样一次,各处理分别进行取样,将小豆植株叶片迅速剪下装入标记好的自封袋内,并立即放入液氮中,而后置于-80℃冰箱中保存,供测定生理指标使用。

待到 5 月 15 日,各处理分别移至室外盆栽场 10 盆,每日观察并进行间苗、拔草等,最终每桶保苗 5 株(5 穴×1 株),根据实际气温和降雨情况,适时浇水直至成熟,进行产量调查。

1.3.2 测定方法 采用氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,愈创木酚法测定过氧化

表 1 试验设计方案			
Table 1 Experiment design			
品种 Variety	处理编号 Treatment number	药剂处理 Pesticide treatment	温度处理 Temperature treatment
龙小豆 4 号 Longxiaodou 4 (LXD 4)	T1	清水喷施 Spray water	室内常温 Indoor normal temperature
	T2	清水喷施 Spray water	室内低温 Indoor low temperature
	T3	ABA 喷施 Spray ABA	室内低温 Indoor low temperature
天津红 Tianjinhong (TJH)	T4	清水喷施 Spray water	室内常温 Indoor normal temperature
	T5	清水喷施 Spray water	室内低温 Indoor low temperature
	T6	ABA 喷施 Spray ABA	室内低温 Indoor low temperature

物酶(POD)活性,采用分解过氧化氢含量速率法测定过氧化氢酶(CAT)活性,采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)含量,可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法;具体操作规程按照李合生等^[12]的方法;可溶性糖含量测定采用硫酸蒽酮比色法,脯氨酸含量测定采用茚三酮比色法;具体操作规程按照张宪政等^[13]的方法。

1.4 数据处理

试验所有数据利用 Excel 2010 进行处理和作图,使用 DPS 软件进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片 H₂O₂ 和 MDA 含量的影响

2.1.1 对叶片 H₂O₂ 含量的影响 由图 1 可知,幼苗期低温处理后,随着取样时间的延续小豆叶片 H₂O₂ 含量呈下降趋势。第 1 天取样,龙小豆 4 号 H₂O₂ 含量的高低顺序为 T2>T3>T1,其中 T2 较 T1 高 34.82%,T3 较 T2 低 7.63%,方差分析结果表明各处理间差异极显著;天津红 H₂O₂ 含量的高低顺序为 T5>T6>T4,其中 T5 较 T4 高 27.10%,T6 较 T5 低 8.36%,方差分析结果表明各处理间差异也达到极显著水平。第 2 天取样,龙小豆 4 号 H₂O₂ 含量的高低顺序为 T2>T3>T1,方差分析结果表明 T2 极显著高于 T1、显著高于 T3,但 T1 和 T3 之间没有显著差异;天津红 H₂O₂ 含量的高低顺序为 T5>T6>T4,方差分析结果表明 T5 极显著高于 T4 和 T6,而 T6 显著高于 T4,未达到极显著水平,说明外源 ABA 预喷施能够相对降低 H₂O₂ 含量。从第 3 天取样开始,不论是龙小豆 4 号还是天津红,方差分析结果表明各处理 H₂O₂ 含量之间没有显著差异。

2.1.2 对叶片 MDA 含量的影响 由图 2 可知,幼苗期低温处理后,随着恢复自然温度时间的延长,小豆茎内 MDA 含量呈下降趋势。前 3 次取样,龙小豆 4 号 MDA 含量的高低顺序为 T2>T3>T1;天津红 MDA 含量的高低顺序为 T5>T6>T4。第 1 天取样,龙小豆 4 号 T2 较 T1 高 65.56%,T3 较 T2 低10.18%,经方差分析可知各处理间差异极显著;天津红 T5 较 T4 高 83.79%,T6 较 T5 低 20.27%,方差分析结果表明各处理间差异达到极显著水平。第 2 天取样时,方差分析结果表明:龙小豆 4 号 T2 的 MDA 含量极显著高于 T1,但 T3 与 T1 和 T2 之间没有显著差异;天津红 T5 处理的 MDA 含量极显著高于 T4 和 T6,而 T6 显著高于 T4。第 3 天取样,方差分析结果表明:龙小豆 4 号 T2 的 MDA 含量显著高于 T1,但 T3 与 T1 和 T2 之间没有显著差异;天津红 T5 处理的 MDA 含量极显著高于 T4、显著高于 T6,而 T6 和 T4 之间没有显著性差异。第 4 天和第 5 天取样,分别对龙小豆 4 号和天津红进行方差分析,结果表明各处理间差异均不显著。整体看外源 ABA 预喷施能够相对降低 MDA 含量,有利于小豆快速恢复正常生理活动,缓解低温胁迫。

2.2 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片抗氧化酶系统的影响

2.2.1 对叶片 SOD 活性的影响 由图 3 可知,低温处理后小豆叶片 SOD 活性相应提高。整体看龙小豆 4 号的活性高于天津红,这与其耐冷性强有关。第 1~5 天取样,龙小豆 4 号的 T3 处理的 SOD 活性均高于 T1 和 T2。第 1 天取样,T2 较 T1 高 6.67%,T3 较 T2 提高9.06%;第 2 天取样活性达到最高,T3 比 T2 和 T1 分别高出 22.94%和 18.93%;从第 2 天取样开始,T3 活性降低,直到第 5 天取样,各处理 SOD 活性趋于接近。方差分析结果表明,第 1 天取样,T3 显著高于 T1,但 T3 与 T2 之间差异不显著;第 2 天取样,T3 极显著高于 T1 和 T2;第 3 天取样,T3 显著高于 T1,但 T3 与 T2 之间差异不显著;第 4 天取样,T3 显著高于 T1,显著高于 T2,同时 T2 显著高于 T1;第 5 天取样,各处理间 SOD 活性无显著性差异。各取样时期,天津红的 SOD 活性均为 T6>T5>T4。第 1 天取样,T5 较 T4 高18.48%,T6 较 T5 高 13.57%,方差分析可知 T6 极显著高于 T4,显著高于 T5;第 2 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,T5 极显著高于 T4;第 3 天取样,T6 和 T5 极显著高于 T4,但 T6

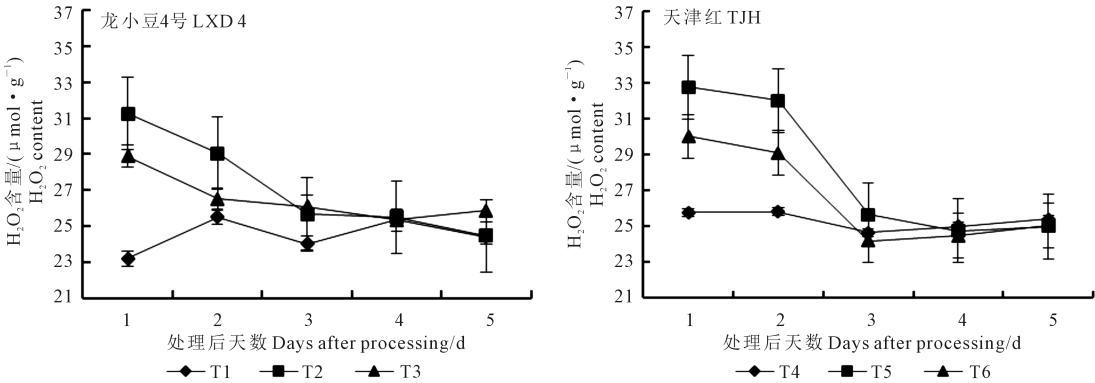


图 1 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片 H₂O₂ 含量的影响

Fig.1 Effect of exogenous ABA on H₂O₂ content in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

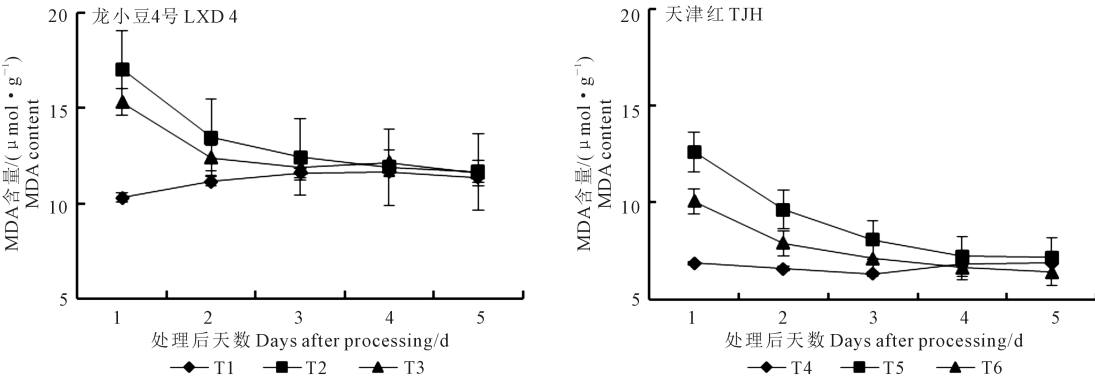


图 2 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片 MDA 含量的影响

Fig.2 Effect of exogenous ABA on MDA content in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

与 T5 之间差异不显著;第 4 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,T5 极显著高于 T4;第 5 天取样,T6 显著高于 T4 和 T5,T5 和 T4 之间无显著性差异。

2.2.2 对叶片 POD 活性的影响 从图 4 可以看出,幼苗期低温处理后小豆叶片 POD 活性大致呈下降趋势。龙小豆 4 号在取样第 1 天各处理的 POD 活性最高,其高低顺序是 T3>T2>T1,其中 T2 较 T1 高 45.53%,T3 较 T2 提高 8.26%,自第 2 天取样开始,POD 活性趋于平稳。方差分析结果表明,第 1 天取样,T3 和 T2 极显著高于 T1,但 T3 与 T2 之间差异不显著;第 2 天取样,T3 极显著高于 T1,显著高于 T2;第 3 天取样,T3 显著高于 T1,但 T3 与 T2 之间差异不显著;第 4 天取样,T3 极显著高于 T1,与 T2 之间差异不显著;第 5 天取样,处理间 POD 活性无显著性差异。喷施外源 ABA 能够明显影响天津红 POD 活性,各不同取样时间 POD 活性均为 T6>T5>T4。第 1 天取样,T5 较 T4 高 102.44%,T6 较 T5 提高 28.51%。方差分析结果表明:第 1 天到第 4 天取样,T6 均极显著高于 T4 和 T5,同时 T5 也极显著高于 T4;第 5 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,但 T5

和 T4 之间无显著性差异。

2.2.3 对叶片 CAT 活性的影响 由图 5 可知,幼苗期低温处理后,小豆叶片内 CAT 活性呈下降的变化趋势。经过方差分析可知龙小豆 4 号各取样时不同处理间的 CAT 活性没有显著性差异。天津红在不同取样时间均是 T6 处理 CAT 活性最高,方差分析结果表明,第 1 天取样,T6 和 T5 均显著高于 T4,但 T6 和 T5 之间差异不显著;第 2 天取样,T6 极显著高于 T4,但 T6 与 T5 之间差异不显著;第 3 天到第 5 天取样,各处理之间差异不显著。

2.3 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片可溶性物质含量的影响

2.3.1 对叶片脯氨酸含量的影响 由图 6 可知,幼苗期低温处理后,小豆叶片内脯氨酸含量呈先升后降变化规律。第 1 天取样,T2 较 T1 高 33.12%,T3 较 T2 提高 9.13%;第 3 天取样,龙小豆 4 号脯氨酸含量 T3 最高,较 T2 和 T1 分别提高 74.68%和 36.00%,随后 T3 开始下降,第 5 天取样,与 T1 和 T2 趋平。对龙小豆 4 号各取样时间脯氨酸含量进行方差分析可知:第 1 天取样,T3 极显著高于 T1,但 T3 与

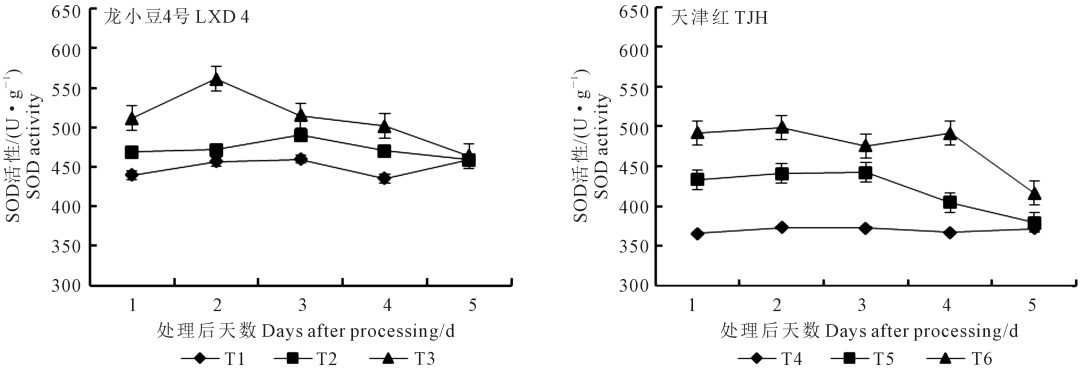


图 3 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片 SOD 活性的影响

Fig.3 Effect of exogenous ABA on SOD activity in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

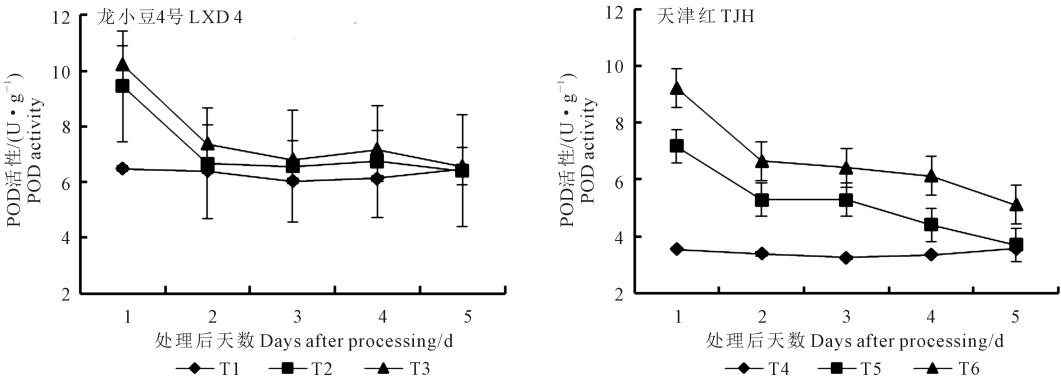


图 4 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片 POD 活性的影响

Fig.4 Effect of exogenous ABA on POD activity in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

T2 之间差异不显著;第 2 天和第 3 天取样结果相同,均为 T3 极显著高于 T1 和 T2,T2 极显著高于 T1;第 4 天取样,T3 显著高于 T1,但 T3 与 T2 之间差异不显著;第 4 天取样,T3 极显著高于 T1 和 T2;第 5 天取样,处理间脯氨酸含量无显著性差异。叶面喷施外源 ABA 对天津红叶片脯氨酸含量的调控效应更强,第 1 天取样,T5 较 T4 高 24.41%,T6 较 T5 提高 19.76%,第 3 天取样,天津红脯氨酸含量 T6 最高,较 T4 和 T5 分别提高 54.72%和 8.15%。方差分析可知取样第 1 天到第 4 天,T6 均极显著高于 T4,其中第 1 天和第 4 天,T6 显著高于 T5;第 5 天取样,处理间脯氨酸含量无显著性差异。

2.3.2 对叶片可溶性糖含量的影响 由图 7 可知,幼苗期低温处理后,不同品种小豆叶片可溶性糖含量变化趋势不同,龙小豆 4 号总体呈先升后降的变化趋势,而天津红的变化幅度不大。从整体来看,龙小豆 4 号的可溶性糖含量高于天津红,这也是其抗冷性强的又一生理因素。喷施外源 ABA 处理能明显提高可溶性糖含量,在所有取样时间内,T3 均高于 T1 和 T2,T6 高于 T4 和 T5。龙小豆 4 号第 3

天和第 4 天取样,各处理可溶性糖差异相对明显,方差分析结果表明 T3 均极显著高于 T1,第 3 天取样 T3 极显著高于 T2,其他取样时间内处理间无显著性差异。低温及喷施外源 ABA 对天津红的可溶性糖含量调控明显,第 1 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,而 T5 极显著高于 T4;第 2 天取样,T6 和 T5 极显著高于 T4,T6 和 T5 之间没有显著性差异;第 3 天取样,T6 和 T5 显著高于 T4,但 T6 与 T5 之间差异不显著;第 4 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,T5 极显著高于 T4;第 5 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,T5 显著高于 T4。

2.3.3 对叶片可溶性蛋白含量的影响 由图 8 可知,幼苗期低温处理后,小豆叶片可溶性蛋白质含量的变化没有明显的规律,但可以看出龙小豆 4 号高于天津红,这是品种间遗传差异所致。对龙小豆 4 号各取样时间的可溶性蛋白含量进行方差分析可知,第 1 天和第 3 天取样,处理间没有显著性差异;第 2 天取样,T3 极显著高于 T2;第 4 天取样,T3 极显著高于 T1,显著高于 T2。此外,第 5 天取样时 T3 含量骤降,幅度比较异常,笔者认为这可能是取样的

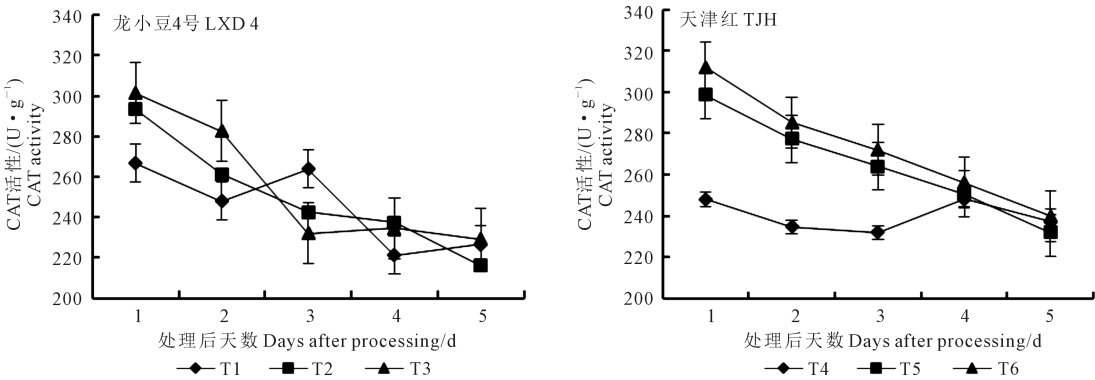


图 5 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片 CAT 活性的影响

Fig.5 Effect of exogenous ABA on CAT activity in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

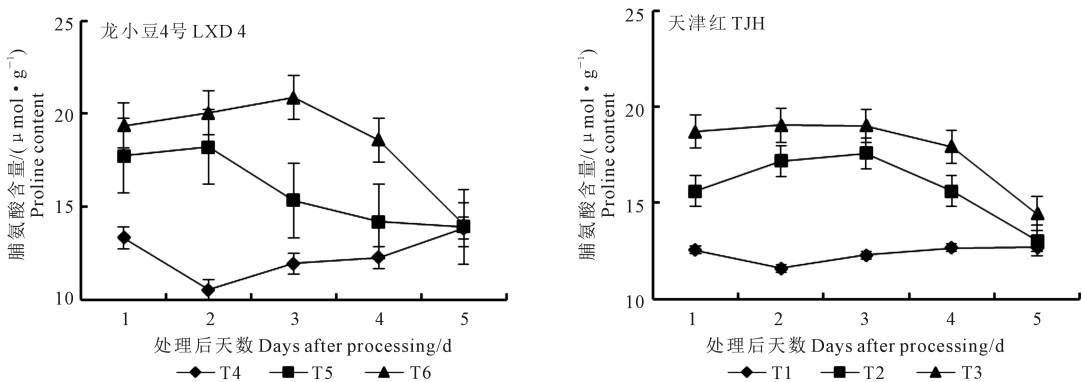


图 6 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片脯氨酸含量的影响

Fig.6 Effect of exogenous ABA on proline content in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

偶然误差所致。对天津红的可溶性蛋白含量进行方差分析,结果表明:第 1 天取样,T6 极显著高于 T4 和 T5,而 T5 极显著高于 T4;第 2 天取样,T6 和 T4 极显著高于 T5,T6 和 T4 之间没有显著性差异;第 3 天取样,处理间差异不显著;第 4 天取样,T6 极显著高于 T4,T5 显著高于 T4;第 5 天取样,T6 和 T5 极显著高于 T4,T6 和 T5 之间差异不显著。

2.4 幼苗期低温胁迫下外源 ABA 对小豆产量的影响

由表 2 可知,幼苗期低温处理后,小豆产量因子发生变化。低温条件下,龙小豆 4 号的株荚数和荚粒数未发生显著性变化,但单株粒重和百粒重发生

较大变化,与 T1 相比,T2 的单株粒重和百粒重分别下降了 0.73 g 和 0.45 g,下降幅度分别是为 11.61% 和 2.58%,达到了显著差异水平。天津红的荚粒数和单株粒重未发生显著变化,T5 的株荚数较 T4 下降了 18.55%,差异达显著水平,T5 的百粒重较 T4 下降了 1.41 g,降幅为 10.61%,差异达到显著水平。

低温条件下,喷施外源 ABA 可调节小豆产量因子,龙小豆 4 号的百粒重发生较大变化,与 T2 相比,T3 的百粒重增加了 1.37 g,增幅为 8.56%,差异达到显著水平;喷施外源 ABA 使天津红的百粒重也有所提高,T6 较 T5 增加了 1.06 g,增幅为 8.92%,但方差分析结果表明差异未达显著水平。

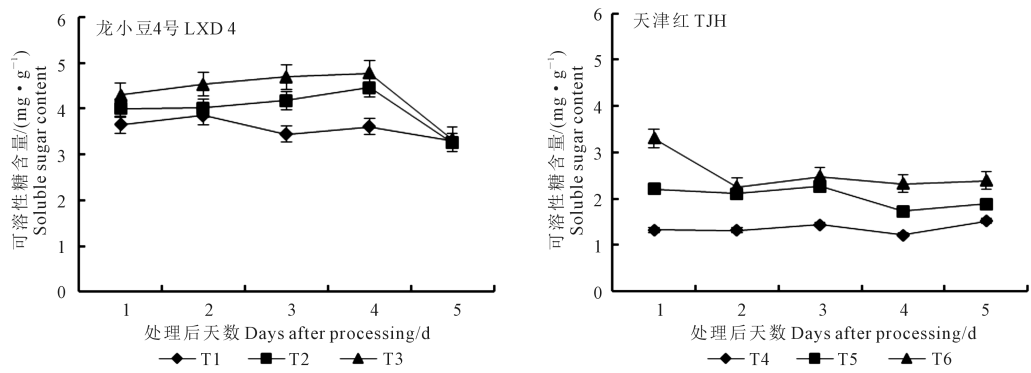


图 7 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片可溶性糖含量的影响

Fig.7 Effect of exogenous ABA on soluble sugar content in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

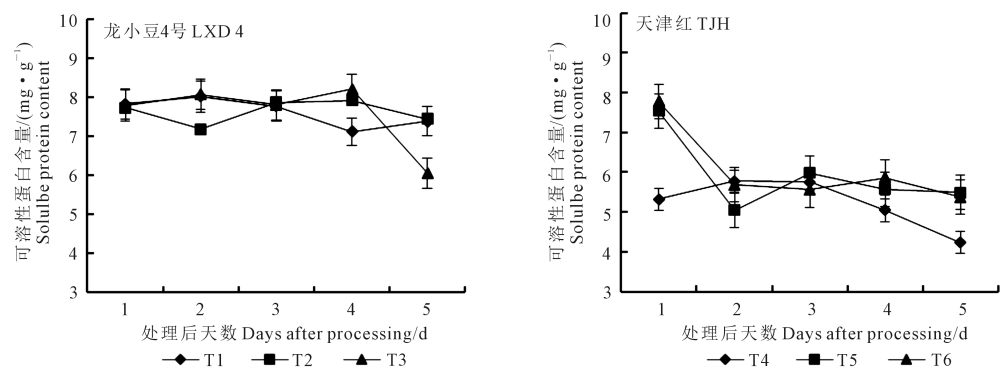


图 8 外源 ABA 对低温胁迫下小豆幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig.8 Effect of exogenous ABA on soluble protein content in leaf of adzuki bean seedlings under low temperature stress

表 2 外源 ABA 对低温胁迫下小豆产量因子的影响

Table 2 Effect of exogenous ABA on yield factors under low temperature stress of adzuki bean during seedling stage					
材料 Materials	处理 Treatment	株荚数 Pod number per plant	荚粒数 Seeds number per plant	单株粒重/g Seed weight per plant	百粒重/g 100-seed weight
龙小豆 4 号 LXD 4	T1	8.33±0.67 Aa	5.39±0.20 Aa	6.29±0.14 Aa	17.45±0.54 Aa
	T2	7.67±0.88 Aa	4.82±0.36 Aa	5.56±0.17 Ab	16.00±0.08 Ab
	T3	7.67±0.33 Aa	5.26±0.19 Aa	6.19±0.15 Aa	17.37±0.19 Aa
天津红 TJH	T4	9.00±0.58 Aa	5.54±0.43 Aa	4.55±0.14 Aa	13.29±0.21 Aa
	T5	7.33±0.33 Ab	5.53±0.29 Aa	4.08±0.10 Aa	11.88±0.57 Ab
	T6	8.33±0.67 Aa	5.74±0.53 Aa	4.97±0.50 Aa	12.94±0.30 Aab

注:平均数后的误差为标准误差。采用新复极差法进行多重比较,同一列小写字母表示 $P<0.05$ 显著水平,大写字母表示 $P<0.01$ 显著水平。

Note: Error followed the mean is standard error. Treatment means were separated using Duncan's multiple range test. Small and capital letters within each column were used to indicate difference at 0.05 and 0.01 levels of probability, respectively.

3 讨 论

低温对植物的形态结构发展、代谢途径、生长发育进程都具有较大影响,植物对低温胁迫的适应性和抵抗能力既受系统发育的遗传基因控制,又受个体发育过程中生理状态制约^[14],植物遭受低温胁迫后,会开启一系列应激的自我防护机制,这些保护系统之间相互有机协调,以最大程度降低伤害。

外源 ABA 具有调控植物的抗逆生理的功能,在抵御低温胁迫方面具有多条路径,其核心机制是减少活性氧类物质的积累,降低膜质过氧化程度,减少其对细胞膜的损伤,保障细胞膜的正常渗透调节功能以维持正常的生理代谢。主要应激反应是增强抗氧化酶活性,提高渗透调节物质含量,以调节 MDA 含量降低、减少 O_2^- 、 H_2O_2 等活性氧 (ROS) 物质的积累。

H_2O_2 是植物体内一类重要的 ROS 物质,正常条件下 H_2O_2 的产生和清除过程基本保持一种精细的平衡状态,这样既保证了植物体内 H_2O_2 具有一定的生理功能,同时也将其对植物的伤害效应降到最低。如果打破 H_2O_2 产生和清除的这种平衡,出现 H_2O_2 的积累。由于它具有较高的氧化还原活性,所以能引起细胞内大分子氧化损伤,最终抑制植物体内多种生理生化反应,影响植物体内的调控和代谢^[15]。MDA 是细胞膜过氧化产物,其含量高低是质膜受损严重与否的重要指标^[16],胁迫程度越强,MDA 积累量越多。低温可导致植物体内 H_2O_2 和 MDA 含量增加,增加质膜透性,对细胞膜造成损伤。夏军等^[17]研究得出不同低温胁迫均导致棉花种子内 H_2O_2 和 MDA 含量增加;张腾国等^[18]也认为油菜受到低温胁迫后体内 H_2O_2 含量迅速增加。外源 ABA 具有减缓逆境条件下 ROS 类物质和 MDA 含量增加的生理功能。蒲高斌等^[11]认为低温胁迫下外源 ABA 能有效降低西瓜体内 MDA 的积累,维持膜的完整性,增强植株的抗寒能力;阮英慧等^[19]研究得出外源 ABA 能够显著降低干旱胁迫下作物体内 ROS 类物质的积累,并可显著提高抗坏血酸含量以清除 H_2O_2 ,缓解低温胁迫。这可能与外源 ABA 具有提高保护酶活性的生理功能有关,因为当植物处于逆境时,细胞内自由基产生和清除的平衡系统受到破坏,植物体内存在清除自由基的多种途径,其中最主要的就是抗氧化酶系统,植物通过 SOD、POD 和 CAT 三者协同作用,使体内的氧自由基维持在较低水平,可以在一定程度上减缓或防御低温胁迫^[20]。Zhang 等^[21]也得出 ABA 通过调控抗氧化酶

活性,有效缓解冷害条件下黄瓜幼苗的氧化受损程度;黄凤莲等^[22]得出 ABA 能够缓解低温胁迫下水稻幼苗 SOD、POD 的活性变化,这都与本文研究结果类似。低温处理后,植物自身保护机制开启,SOD 和 POD 活性明显提高,以应对不良环境带来的胁迫,外源 ABA 能够进一步提高小豆叶片内的 SOD 和 POD 活性,增强对 ROS 的清除能力,保护细胞尽量不受伤害。但是本试验结果表明,不同小豆品种之间 CAT 活性变化不同,低温胁迫和外源 ABA 对龙小豆 4 号的 CAT 活性均没有显著影响,这可能与其遗传特性相关,其自身具有较高的可溶性物质,能够稳定渗透调节功能。

植物为了减缓由逆境胁迫造成的生理代谢不平衡,会大量积累一些小分子有机化合物,通过渗透调节来降低水势,以维持较高的渗透压,保证细胞的正常生理功能^[23]。低温胁迫下可溶性糖和可溶性蛋白在植物体内会大量积累,可溶性糖通过某些糖代谢途径形成保护性物质,提高植物抵抗低温的能力^[24]。脯氨酸通过参与细胞内的渗透调节起到了防冻剂或膜稳定剂的作用,对细胞起到保护作用。Xiang 等^[10]研究表明低温条件下外源 ABA 能提高水稻叶片内脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量,增强水稻的抗冷性。蒲高斌等^[11]得出低温胁迫下外源 ABA 能促进渗透保护物质脯氨酸和可溶性糖的增加,增强植株的抗寒性,表明这是外源 ABA 有效提高西瓜幼苗抗冷性、减轻低温对西瓜苗伤害的主要生理基础。本研究结果表明外源 ABA 能够有效提高小豆叶片可溶性糖的含量,对可溶性蛋白的影响较为微弱,但是对脯氨酸含量具有显著的提高作用,这可能与外源 ABA 提高了 Δ -二氢吡咯-5-羧酸合成酶 (P5C synthetase, P5CS) 的合成有关。P5CS 基因在胁迫条件下对植物中脯氨酸合成水平起着重要作用,转基因 P5CS 的烟草中产生了大量的 P5CS 酶蛋白,脯氨酸合成量比正常植株升高 10 倍。积累的脯氨酸通过参加细胞内的渗透调节,起到了防冻剂或膜稳定剂的作用,对细胞起到保护作用,进而提高了小豆的抗冷性。

相关报道表明外源 ABA 能够显著提高逆境胁迫下作物产量因子,促使作物产量有效提高。屈春媛等^[25]研究得出,干旱胁迫下外源 ABA 显著提高了大豆单株粒数、百粒重以及产量;谢静静等^[26]也认为外源 ABA 有效提高了干旱胁迫后小麦的穗粒数、千粒重和产量。本研究结果表明,低温导致小豆百粒重显著降低,并显著降低了天津红品种的单株荚数,进而对产量造成影响;相较于喷施清水,喷

施外源 ABA 能够显著提高低温胁迫后小豆的百粒重,有效缓解低温对产量的影响。

4 结 论

幼苗期低温导致小豆叶片生理指标发生变化,低温引起龙小豆 4 号和天津红叶片内 H₂O₂ 含量增加 34.82%和 27.10%(*P*<0.05)、引起 MDA 含量增加 65.56%和 83.79%(*P*<0.05),同时促进 SOD 和 POD 活性提高,两品种分别提高 6.67%和 18.48%、45.53%和 102.44%。脯氨酸含量也明显增加,分别为 33.12%和 24.41%。通过保护酶活性和渗透调节物质的量变协同抵抗 H₂O₂ 和 MDA 对细胞带来的伤害。外源 ABA 具有抵御低温、降低作物受损的作用,其能有效增强小豆叶片 SOD 和 POD 的活性,龙小豆 4 号和天津红分别提高 9.06%和 13.57%、8.26%和28.51%;外源 ABA 能增加脯氨酸含量,两品种分别增加 9.13%和 19.76%,同时可降低 H₂O₂ 和 MDA 含量,龙小豆 4 号和天津红分别降低 7.63%和 8.36%、10.18%和 20.27%。外源 ABA 能提高小豆对低温胁迫的抗性,维持正常生理活动。

幼苗期低温导致产量因子发生变化,低温导致小豆百粒重显著降低,龙小豆 4 号和天津红分别降低 2.58%和 10.61%,对产量造成影响。低温胁迫后,与喷施清水相比较,外源 ABA 能够提高小豆的百粒重,龙小豆 4 号和天津红分别提高8.56%和 8.92%,有效缓解低温对产量的影响。本试验得出外源 ABA 能够缓解低温对小豆造成的伤害,对低温条件下小豆保产稳产起到实际作用,为进一步研究小豆幼苗抵御低温伤害提供理论基础。

参 考 文 献:

[1] Kin S, Beak S K, Go E, et al. Application of adzuki bean starch in antioxidant films containing cocoa nibs extract[J].Polymers,2018,10 (11):1210-1221.

[2] 秦文斌,山溪,张振超,等. 低温胁迫对甘蓝幼苗抗逆生理指标的影响[J].核农学报,2018,32(3):576-581.

[3] 陈涛,张华,安黎哲. ICE1-CBF 信号通路在植物抵御低温胁迫和调控发育过程中的作用研究进展[J].西北植物学报,2019,39(8):1513-1520.

[4] 陈汇林,侯伟. 低温对豇豆幼苗抗氧化酶系统的影响[J].气象与环境科学,2018,41(3):47-50.

[5] Liu L J, Cang J, Yu J,et al. Effects of exogenous abscisic acid on winter wheat key enzymes of sucrose metabolism in the wintering period [J].Plant Physiology Journal, 2013, 49(11): 1173-1180.

[6] 李进,张军高,刘梦丽,等. 4 种外源物质对低温胁迫下棉花幼苗

的缓解效应分析[J].分子植物育种,2019,17(17):5792-5800.

[7] 项洪涛,齐德强,李琬,等. 低温胁迫下外源 ABA 对开花期水稻叶鞘激素含量及抗寒生理的影响[J].草业学报,2019, 28(4):81-94.

[8] 李平,王以柔,甄立平,等. 外源 ABA 对黄瓜幼苗抗低温胁迫的作用.植物学报[J].1989,31(11): 867-873.

[9] 方彦,武军艳,孙万仓,等. 外源 ABA 浸种对冬油菜种子萌发及幼苗抗寒性的诱导效应[J].干旱地区农业研究, 2014, 32(6):70-74.

[10] Xiang H T, Wang T T, Zheng D F, et al. ABA pretreatment enhances the chilling tolerance of a chilling-sensitive rice cultivar [J].Brazilian Journal of Botany,2017,40(4):853-860.

[11] 蒲高斌,张凯,张陆阳,等. 外源 ABA 对西瓜幼苗抗冷性和某些生理指标的影响[J].西北农业学报, 2011, 20(1):133-136.

[12] 李合生,孙群,赵世杰. 植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社, 2000:167-169,184-185.

[13] 张宪政. 作物生理研究法[M].北京:农业出版社,1992:201-202.

[14] 古丽江·许库尔汗,孙雅丽,阿依古丽·铁木儿,等. 低温胁迫对红加仑枝条渗透物质含量、膜质过氧化及保护酶活性的影响[J].新疆农业科学,2019, 56(4): 685-695.

[15] 宋喜贵,余小平. 植物体内过氧化氢的产生及其生理作用[J].连云港示范高等专科学校学报,2010,(4):99-103.

[16] 刘学庆,孙纪霞,丁朋松,等.低温胁迫对蝴蝶兰内源激素的影响[J].江西农业大学学报,2009,29(5):464-469.

[17] 夏军,时晓娟,郝先哲,等.低温对不同基因型棉种萌发过程中酶活性及激素含量的影响[J].植物生理学报, 2019, 55(9): 1291-1305.

[18] 张腾国,胡馨丹,李萍,等.盐及低温胁迫对油菜 ROS 和抗氧化酶活性的影响[J].兰州大学学报:自然科学版,2019,55(4):497-505.

[19] 阮英慧,董守坤,刘丽君,等.外源脱落酸对大豆花期抗旱生理特性的影响[J].耕作与栽培,2014,(1):6-8.

[20] 李防洲,冶军,侯振安. 外源调节剂包衣对低温胁迫下棉花种子萌发及幼苗耐寒性的影响[J].干旱地区农业研究,2017,35(1):192-197.

[21] Zhang Y, Jiang W J, Yu H J, et al. Exogenous abscisic acid alleviates low temperature-induced oxidative damage in seedlings of Cucumis sativus.L[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012,28(Supp.2): 221-228.

[22] 黄凤莲,戴良英,罗宽. 药剂诱导水稻幼苗抗寒机制研究[J].作物学报,2000,26(1): 92-97.

[23] 赵江涛,李晓峰,李航,等.可溶性糖在高等植物代谢调节中的生理作用[J].安徽农业科学,2006,34(24):6423-6425.

[24] 项洪涛,王彤彤,郑殿峰,等.孕穗期低温条件下 ABA 对水稻结实率及叶片生理特性的影响[J].中国农学通报,2016,32(36):16-23.

[25] 屈春媛,张玉先,金喜军,等. 干旱胁迫下外源 ABA 对鼓粒期大豆产量及氮代谢关键酶活性影响[J].中国农学通报,2017,33(34):26-31.

[26] 谢静静,王笑,蔡剑,等. 苗期外源脱落酸和茉莉酸缓解小麦花后干旱胁迫的效应及其生理机制[J].麦类作物学报, 2018, 38(2):221-229.