

菜用大豆种子劣变与生理生化变化的关系*

孟祥栋

(青岛市农业科学研究所)

摘 要

本文以菜用大豆种子为试材,研究了不同活力种子发生的一些生理生化变化。结果表明,随着种子劣变,细胞膜结构和功能受到损伤,浸泡液电导率增加;当种子丧失生活力后,细胞膜损伤严重,并失去修复能力,内含物大量外渗。高活力种子吸胀萌发过程中呼吸代谢旺盛,而低活力种子呼吸强度较弱。当种子失去生活力后,胚轴中测不出过氧化物酶的活性,胚轴、子叶过氧化物酶同工酶谱带减少,峰高降低;胚轴酯酶同工酶谱带减少,峰高降低,而子叶酯酶同工酶很少发生变化。

关键词 菜用大豆种子;劣变;生理生化变化

菜用大豆(*Glycine max* L. Merr.)是一种重要的蔬菜作物,在我国南方栽培普遍。但是,多年来生产上一直存在着种子在收获后经高温、多雨的夏季贮藏,生活力严重下降的问题^[1]。

种子劣变过程中发生了一系列生理生化变化^[2,3]。研究这些变化,对了解种子劣变的机理,寻找有效防止种子活力下降的措施,具有重要意义。本实验的目的是研究菜用大豆种子劣变所发生的生理生化变化,为进一步探索其劣变机理提供依据。

材 料 与 方 法

实验材料选来自杭州常用栽培品种“六月拔”菜用大豆种子。

对菜用大豆种子进行下列3种处理:(1)高温高湿(模拟南方夏季气候):干燥器底部加4cm左右深K₂SO₄饱和溶液使密封干燥器内相对湿度达90%左右,在铁丝网上均匀铺

* 本研究在李曙轩先生指导下于浙江农业大学完成。

本文于1992年4月17日收到。This paper was received on April 17, 1992.

放处理种子,然后将干燥器置于 30℃ 温度控制箱内。经 3 个月以上贮藏,种子发芽率为零。(2)低温低湿贮藏:在 4℃ 下用硅胶干燥贮藏,该处理种子为高活力种子,经 3 个月以上的贮藏,发芽率为 90% 以上。(3)自然贮藏:处理种子放在布袋中置于室内自然条件下,处理一个夏季后种子成为低活力种子,发芽率为 40% 左右。

种子发芽试验:用直径 15cm 培养皿,铺双层滤纸,选大小一致完好种子 30 粒均匀摆放于吸水纸上,置于 25℃ 培养箱中,保持黑暗。2 天计算发芽势,3 天计算发芽率。

种子吸胀过程:选大小一致完好种子 30 粒,称重,然后完全浸泡在蒸馏水中,定时取出吸干表面水分称重。重量的增加表示吸水量。

种子浸泡液电导率测定:每重复取 10 粒大小一致的完好种子,称重,用无离子水冲洗表面,并用定量滤纸迅速吸干表面,放入干净三角瓶中,加 15ml 无离子水,置于 25℃,至所要求的浸泡时间测溶液电导率。

种子吸胀萌发过程中 CO_2 释放的测定:用英国产便携式 ACD CO_2 分析仪测定。取不同萌发时间的种子,吸干表面水分,置于测量室内测其 CO_2 释放速率,并称重种子。

过氧化物酶活性测定:取萌发一定时间的种子胚轴(包括胚轴及胚根)10 个或子叶一定重量,加 2ml 5% pH7.5 CaCl_2 溶液,于冰浴中研磨,再定容 25ml,然后在 3,000g 下离心 15 分钟,取 2ml 提取液,加 6ml 水和 1ml 0.3% 愈创木酚,最后加 0.05N H_2O_2 1ml,并摇匀,于 25℃ 下反应 15 分钟,在 440nm 波长下测其消光值,以不加 H_2O_2 的反应液为空白。

过氧化物酶、酯酶同工酶凝胶电泳分析:参照林学语^[4]、吴少伯^[5]等方法进行。过氧化物酶同工酶凝胶电泳扫描波长为 440nm,酯酶同工酶为 570nm。种子萌发 48 小时取样。

以上实验均重复 3 次以上。

结 果

一、高活力种子与无活力种子吸胀的差异

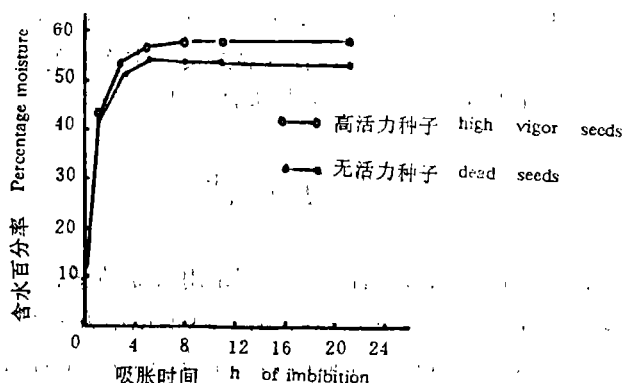


图 1 高活力种子与无活力种子吸胀过程

Fig 1 Curves of imbibition course for living and dead seeds

由图 1 可见,不论是高活力种子还是无活力种子,在吸胀初期都有一个快速吸水过程(3 小时),之后吸水则减缓,直至 10 小时左右,吸水基本达到饱和。但无活力种子吸水速率比高活力种子明显低。达到吸水高峰后,无活力种子重量反而略有减小。

二、不同活力种子吸胀过程中电导率变化

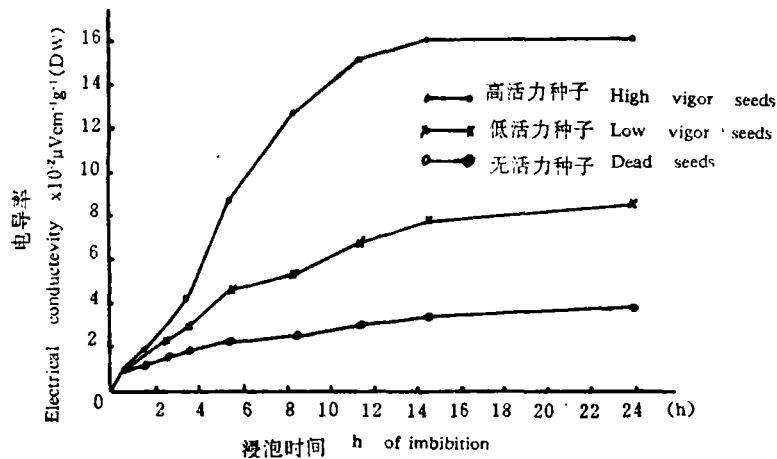


图 2 不同活力种子吸胀过程中电导率变化

Fig 2 Time course of total electrolyte leakage during imbibition

由图 2 可见,种子吸胀过程中电导率呈不断增加的趋势,且不同活力种子之间差异很大。高活力种子吸胀过程中电导率增加缓慢,特别是吸胀后期,基本保持稳定;低活力种子吸胀 6 小时前,电导率增加较快,6 小时后增加较慢;无活力种子吸胀 12 小时前电导率增加迅速,且增加幅度大,吸胀 16 小时后基本保持稳定。

三、不同活力种子的呼吸强度

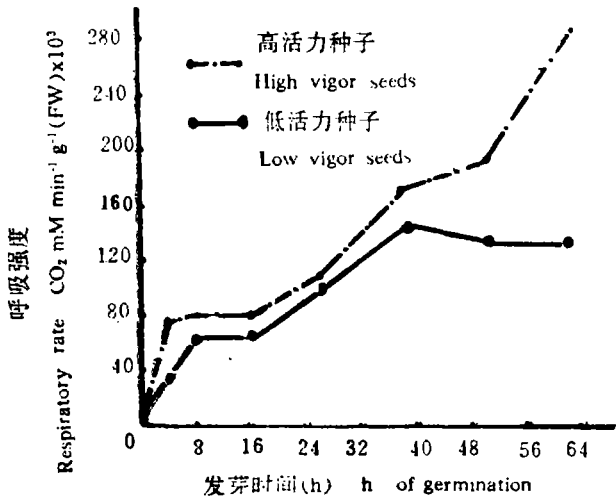


图 3 不同活力种子呼吸强度

Fig 3 Respiratory rate of seeds with different degree of vigor

由图 3 可见,干种子生命活动还未开始而没有 CO₂ 释放。随着种子吸胀而代谢活动逐渐开始,呼吸释放 CO₂。高活力种子和低活力种子在吸胀前 4 小时都有一个 CO₂ 释放迅速增加的阶段;此后低活力种子 CO₂ 释放速率缓慢,至萌发 40 小时后基本保持稳定。高活力种子 CO₂ 释放速率高,特别是萌发 40 小时后,呼吸强度增加迅速。

四、高活力与无活力种子过氧化物酶活性及过氧化物酶、酯酶同工酶的差异

由表 1 可见,无论是高活力种子,还是丧失活力种子,在吸胀 12 小时,子叶和胚轴都测不出过氧化物酶活性。吸胀萌发 24 小时,高活力种子子叶、胚轴都能测出较强的酶活

表 1. 高活力与无活力种子萌发过程中过氧化物酶活性变化

Table 1 Peroxidase activity of living and dead seeds

| | | 萌发时间(h) hours of germination | | | | | |
|---------------------------|------------------|------------------------------|---|----|------------|------------|------------|
| | | 0 | 6 | 12 | 24 | 36 | 48 |
| 高活力种子 High vigor seeds | 胚 轴 Axis | 0 | 0 | 0 | 0.82±0c | 2.35±0.07b | 4.81±0.11a |
| | 子 叶 Cotyledon | 0 | 0 | 0 | 0.43±0.01b | 0.45±0.01b | 3.13±0.07a |
| 无活力种子 Dead seeds | 胚 轴 Axis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 子 叶 Cotyledon | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.66±0.02 |

注:显色条件为 25℃、15′,胚轴活性单位:消光值/胚轴;子叶活性单位消光值/100mgFW。

Note:activity uvit;For axis ,OD value/axis;for cotyledons,OD value/100mg FW.

性;此后,随着萌发过程的进行,过氧化物酶活性不断提高。无活力种子吸胀 48 小时后,胚轴中仍测不出酶活性,但子叶中始能测出较弱的过氧化物酶活性,说明不同器官衰老进程有差异。

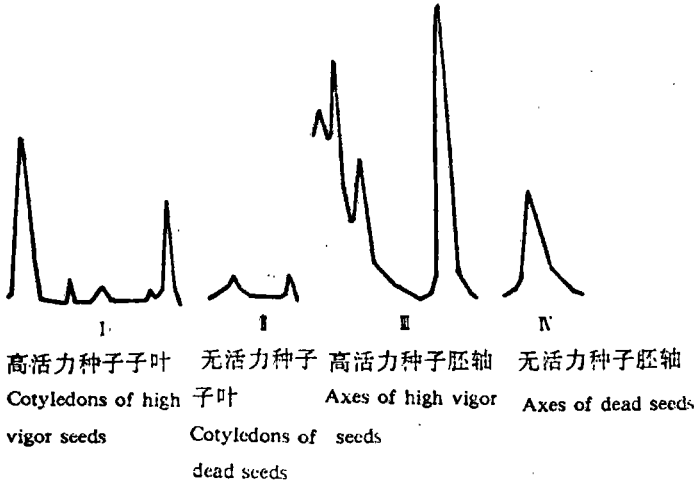


图 4 高活力种子与无活力种子过氧化物酶同工酶扫描图

Fig 4 Scanning of peroxidase isozymes of living and dead seeds

图 4 是高活力种子与无活力种子过氧化物酶同工酶聚丙烯酰胺凝胶干板扫描图。由图可见,高活力种子胚轴有 4 条谱带,子叶有 5 条谱带;而无活力种子胚轴仅有 1 条谱带,

子叶只有 2 条谱带,而且每条带的峰高都明显低。

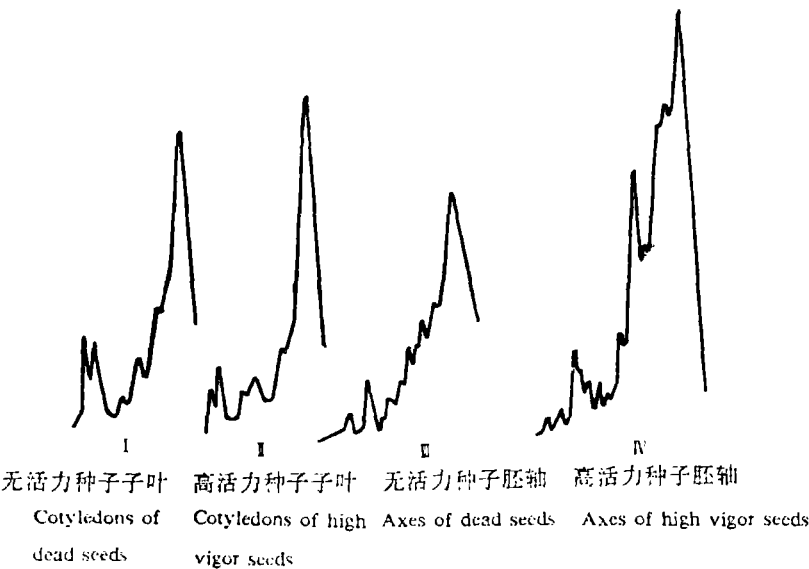


图 5 高活力种子与无活力种子酯酶同工酶扫描

Fig 5 Scanning of esterase isozymes of living and dead seeds

由图 5 可见,高活力种子与无活力种子子叶酯酶同工酶谱带差异不大,都有 6 条,高活力种子谱带峰高略高;胚轴酯酶同工酶谱带差异明显,高活力种子有 13 条谱带,而无活力种子仅有 9 条,且各谱带峰高明显低。

讨 论

在种子劣变过程中,伴随着细胞膜结构与功能的改变。由于高温、高湿的影响,膜结构和完整性受到一定伤害。随着种子活力丧失,膜的损伤积累到了一定程度,膜结构和功能的破坏不可逆转^[6,7]。

高活力种子细胞膜完整性好,在吸胀初期膜结构和功能能自行得到修复,细胞内含物外渗少,溶液电导率小。当种子活力下降较严重时,细胞内含物外渗增加。当种子丧失活力后,内含物大量外渗,结果表现种子吸胀后期重量减少,电导率最高。

随着种子吸胀,其代谢活动逐渐开始。呼吸作用是种子萌发重要的代谢过程。高活力种子呼吸旺盛,为各种代谢过程提供充足的能量,保证生命活动正常进行;而低活力种子呼吸强度低,代谢活动弱,结果发芽迟缓,发芽率降低^[6]。

种子活力与过氧化物酶活性、过氧化物酶同工酶、酯酶同工酶关系密切。当种子丧失活力后,胚轴即失去过氧化物酶合成能力,测不出酶活性;同工酶谱带减少,峰高变小。可能有几种同工酶与种子活力关系密切,随种子劣变,这几种酶合成减少,直至完全丧失合成能力;而有几种同工酶在种子失去活力后仍能保持活性,这几种同工酶可能对萌发代谢并不重要。

综上所述,菜用大豆种子劣变与细胞膜结构与功能的损伤、呼吸代谢强度的减弱、过氧化物酶合成能力的改变及某些过氧化物酶同工酶、酯酶同工酶的减少密切相关。

参 考 文 献

- [1] 孟祥栋、李曙轩,1991,南方菜用大豆种子越夏贮藏的研究,种子(3),16—18
- [2] Abdul-Baki A. A. ,1980. Biochemical aspects of seed vigor. Hortscience 15:765-771
- [3] Roberts E. H. and Black M. ,1989. Seed quality. Seed Sci. & Technol. 17:175-185
- [4] 林学语等,1981,植物组织中同工酶的分析技术—聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳,河南科学,1,1—7
- [5] 吴少伯,1979,植物组织中蛋白质及同工酶的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳,植物生理学通讯,3,54—60
- [6] Abdul-Baki A. A. and Anderson J. D. ,1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Sci. 13, 630-633
- [7] 孟祥栋、李曙轩,1992,水分吸收预处理提高菜用大豆种子活力,浙江农业大学学报,18(1),51—56

RELATIONSHIP BETWEEN SEED DETERIORATION AND PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES OF VEGETABLE SOYBEANS

Meng Xiangdong

(Qingdao Institute of Agricultural Science)

Abstract

The physiological and biochemical changes of vegetable soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds in deterioration were investigated. It was found that as the seeds became deteriorated, the structure and function of cell membrane was damaged. The electrical conductivity of soaking solution increased. When the seeds lost viability, the damage of the membrane was so serious that it could not be recovered. The leakage from the cells was great. Respiratory rate of high vigor seeds was greater than that of low vigor seeds during germination. As the seeds lost viability, peroxidase activity could not be detected in axis. The bands and peaks of peroxidase isozymes of axis and cotyledons decreased and the bands and peaks of esterase isozymes in axis were reduced also. But they remained unchanged in cotyledons.

Key words Vegetable soybean seed; Deterioration; Physiological and biochemical changes