

# 三个熟期类型大豆种子萌发 进程中耐冷性的比较<sup>\*</sup>

张思河<sup>1</sup> 王 萍<sup>2</sup> 马淑英<sup>2</sup> 宋海星<sup>2</sup> 陶 丹<sup>2</sup> 尹田夫<sup>2</sup>

(1. 第四军医大学基础部, 西安 710032; 2. 解放军军需大学农副业生产系, 长春 130062)

**摘要** 本试验通过人工低温处理, 探讨了萌发进程中三个熟期类型大豆品种间耐冷性生理指标间的差异, 结果表明: 低温萌发进程中两早熟品种较中晚熟品种的 CAT 酶活受抑程度小, 可溶性蛋白含量增幅大, 但 MDA 含量变化趋势一致。早熟品种的耐冷性较中晚熟期的品种强

**关键词** 大豆; 耐冷性; 熟期

大豆耐冷育种已成为东北冷害频繁农作区的育种目标。育种学家们清楚地意识到: 在目前作物耐冷机理不甚明了的情况下, 强调品种耐冷性的同时, 必须强化品种的早熟性。然而由于大豆对环境条件反应敏感, 生理代谢作用复杂, 有关耐冷生理育种的基础理论研究还相当少。本文试图通过对低温萌发进程中不同熟期类型的大豆代表品种三个生理指标的考究, 一方面为大豆萌发期的耐冷性筛选提供生理指标, 另一方面对大豆品种熟期与耐冷性之间的关系做初步的探索。

## 1 材料和方法

分别取熟期不同的三个大豆代表品种: Aldana(超早熟型, 耐冷性已鉴定)、Ch 21332(极早熟型, 耐冷性待鉴定)、吉林 29 号(中晚熟型, 耐冷性待鉴定)各 100 粒(严格挑选大小色泽一致, 无病虫害的子粒), 室温下浸泡吸胀 12h, 砂培法培养萌发(播深一致, 3—5cm)。其中一半置于培养箱里做低温(9.5—10℃, 恒温)处理。另一半置于培养箱里同时做适温(18—20℃, 恒温)处理。在种子萌发进程中, 使石英砂基质保持半湿润状态。间隔取样(去种皮, 取子叶)对下列生理指标进行测定:

- (1) 过氧化氢酶(CAT)活力测定: 用高锰酸钾滴定法<sup>[1]</sup>进行。
- (2) 丙二醛(MDA)含量的测定: 用双组分光度法<sup>[2]</sup>进行。
- (3) 可溶性蛋白质含量的测定: 用考马斯亮蓝 G-250 法<sup>[1]</sup>进行。

<sup>\*</sup> 本文为解放军总后勤部资助项目“需 940605”-“耐冷大豆品种选育与鉴定研究”的一部分。

收稿日期 1999-12-10  
Received on Dec. 10, 1999

2 结果与分析

2.1 不同温度下三个熟期类型大豆种子萌发进程中 CAT酶活性比较

由图(图 1)可见,低温和适温下三类型品种种子萌发进程中的 CAT酶活性变化趋势是不同的。在 18- 20℃ 正常适温下,三品种萌发种子的酶活变化均呈下降趋势,而在 9.5 - 10℃ 的临界低温下,三品种萌发种子的酶活变化均呈先升后降的相似趋势。低温萌发初期三品种 CAT 酶活性均呈不同程度降低,降幅大小依次为: 吉林 29 号 > Aldana > Ch21332 (8.84 > 5.6 > 3.23)。这说明低温萌发伊始三品种种子的 CAT 酶活性均遭抑制,但吉林 29 号的抑幅最大。随着萌发进程中的冷适应,三品种种子中的 CAT 酶活性均有不同程度的增高,平均增幅大小依次是: Aldana > Ch21332 > 吉林 29 号 (9.83 > 9.68 > 6.22)。联系到低温萌发中吉林 29 号的出苗率、出苗势等萌发指标均低于其它两个品种,说明萌发进程中 Aldana 和 Ch21332 两品种耐冷性要高于吉林 29 号。另外适温或低温下 Aldana 和 Ch21332 两品种 CAT 酶活性变化趋势始终一致,估计两者在萌发进程中耐冷性是相似的。

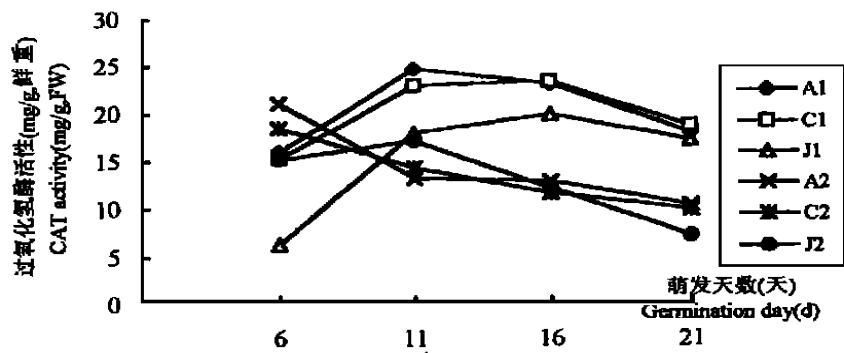


图 1 低温和适温下三类型大豆萌发种子 CAT酶活性比较

Fig. 1 Comparison on CAT activity of three germinated soybean seeds between low temperature and optimal temperature

注: A1 C1 J1和 A2 C2 J2分别代表低温和适温下 CAT酶活曲线

2.2 不同温度下三个熟期类型大豆种子萌发进程中 MDA含量比较

由图(图 2)可见,适温和低温下三类型品种萌发种子中 MDA含量变化是不同的。在 18- 20℃ 适温下,三品种种子的 MDA含量基本都呈下降趋势。在 9.5- 10℃ 的低温下,三品种种子萌发前,中期的 MDA 含量均呈渐增趋势而在萌发后期均呈下降趋势。三品种种子低温萌发下 MDA 含量比适温下的均有所降低,平均降幅大小依次为: Aldana > Ch21332 > 吉林 29 号 (3272.68 > 2794.23 > 2345.77)。

2.3 不同温度下三个熟期类型大豆种子萌发进程中可溶性蛋白质含量比较

由图(图 3)可见,适温和低温萌发进程中三品种种子可溶性蛋白质含量变化是不同的。在 18- 20℃ 适温下,三品种种子可溶性蛋白质含量变化趋势一致,萌发进程中含量差异不大。而在 9.5- 10℃ 低温下,三品种种子的可溶性蛋白质含量均有不同程度的增加,平均增幅大小依次为: Aldana > Ch21332 > 吉林 29 号 (60.40 > 56.45 > 29.25)。联系到

萌发进程中两早熟品种的耐冷性均强于中晚熟品种吉林 29号,说明低温下可溶性蛋白质含量的大幅增高确是种子对冷胁迫的适应反应,且增幅的大小与品种在萌发进程中的耐冷性表现是一致的,即品种耐冷性越强,可溶性蛋白含量则越高。另外,低温萌发进程中 Aldana 和 Ch21332 可溶性蛋白质含量变化趋势的一致,也提示着两者的耐冷性是相似的。

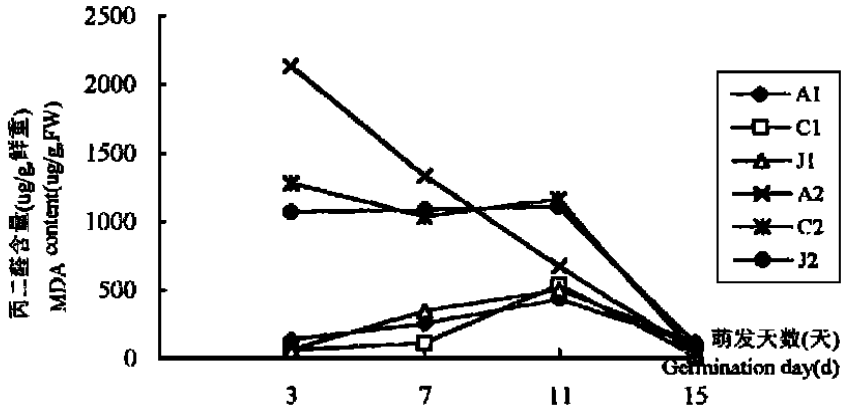


图 2 低温和适温下三类型大豆萌发种子 MDA 含量比较

Fig. 2 Comparison on MDA content of three germinated soybean seeds between low temperature and optimal temperature

注: A1 C1 J1 和 A2 C2 J2 分别代表低温和适温下 MDA 含量曲线

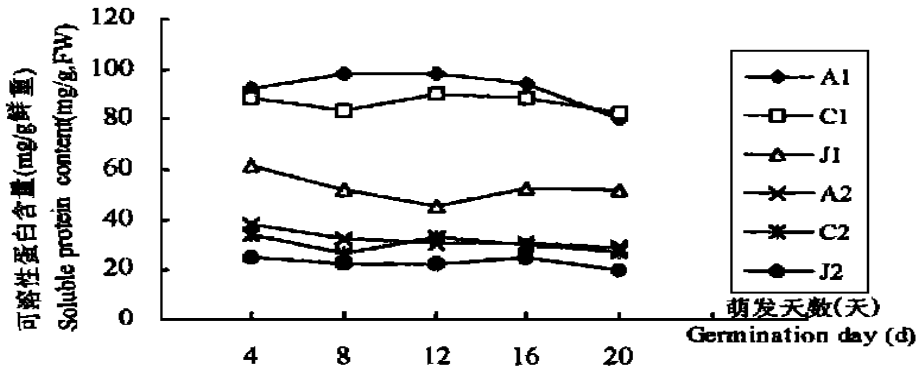


图 3 低温和适温下三类型大豆萌发种子可溶性蛋白含量比较

Fig. 3 Comparison on the soluble protein content of three germinated soybean seeds between low temperature and optimal temperature

注: A1 C1 J1 和 A2 C2 J2 分别代表低温和适温下可溶性蛋白质含量曲线

### 3 讨论

3.1 冷敏植物的 CAT 酶活性在低温下极易受抑制,从而造成细胞中  $H_2O_2$  的积累。  $H_2O_2$  如不能被及时清除,可通过  $H_2O_2 + O_2^- \rightarrow OH + OH^- + 1O_2$  的反应产生更多的自由基或活

性氧,加剧对细胞中生物大分子的破坏,最终致使耐冷性下降。本实验结果表明,低温萌发初期三个类型大豆品种种子CAT酶活大幅降低,这与Omran<sup>[3]</sup>、Taylor<sup>[4]</sup>、陈贻竹<sup>[5]</sup>等在冷敏植物上研究结果相同。随着萌发的进行,种子对临界低温的逐渐适应,CAT酶活性逐渐被调节增高。这与王以柔<sup>[6]</sup>、戴金平<sup>[7]</sup>在抗冷植物上的低温处理结果相似。CAT酶活性提高并稳定维持高活性,加速了细胞受冷时活性氧的清除,此时大豆种子已较萌发初期耐冷能力大为增强。到萌发完全种子渐绿时,CAT酶活性又有所降低,与正常适温下种子萌发进程中CAT的酶活变化趋势相同;我们注意到,在萌发初期中晚熟型品种吉林29号种子中的酶活受抑程度比其它两个早熟品种大得多,这意味着其萌发初期的耐冷性要小于其它两个早熟品种。临界低温处理后大豆种子中CAT酶活力的提高,既表明大豆本身具有一定的耐冷潜力,又说明随着发育的不断进行大豆自我保护适应能力也随之增强。这其中,三个类型品种的CAT酶活增幅不同,说明三个类型品种间的耐冷潜力是不同的。Ch21332品种的酶活在萌发始终与Aldana品种酶活十分接近,可能意味着两者萌发期间的耐冷力是相同的。至于种子萌发进程中品种熟期类型与品种耐冷性是否存在相关,还须通过大量扩大品种类型数的实验进一步证明。

3.2 MDA是低温胁迫下细胞内非脂性自由基( $O_2$ 和 $OH$ )通过膜脂过氧化作用形成的脂氢过氧化物(LOOH)分解的中间产物。MDA易与蛋白质分子(包括多数酶)结合而形成蛋白质交联物( $PNHCH=CH-CH=N-P$ ),从而导致胞内许多生物功能分子(如膜上重要酶系等)变性。一般研究认为,MDA是膜脂过氧化程度的主要指标<sup>[8]</sup>,MDA的含量在低温冲击下会伴随着自由基清除酶系活力的降低而明显增高。但本实验结果表明,在种子低温萌发的前、中期,三类型品种种子的MDA含量的确有所增加,但却比正常适温萌发下的要低得多。这可能是由于萌发进程中MDA进一步迅速代谢或其它成分结合的缘故。另外已知,不饱和程度越高的脂质过氧化生成MDA的能力越强。萌发大豆种子脂肪酸的动态研究<sup>[9]</sup>已表明,不饱和脂肪酸比饱和脂肪酸更易为萌发大豆种子利用,故低温下MDA含量比适温下的低可能正是由于这三类品种低温萌发进程中不饱和脂肪酸被大量利用的原因。与正常适温的情况不同,低温萌发下三个类型品种的MDA含量表现几乎一致,这与其它植物上的研究结果<sup>[10]</sup>并不一致。具体原因须进一步实验探讨。

3.3 低温胁迫下与蛋白质相关的研究多集中在功能蛋白(如膜结合酶蛋白体系)上,低温可使参与重要代谢的同功酶酶谱增加,低温适应过程或冷冲击下易形成逆境蛋白<sup>[11]</sup>(如冷响应蛋白,COR;低温诱导蛋白,LTIP;冷激蛋白,CSP等)。而对于总可溶性蛋白质的含量变化研究<sup>[12]</sup>较少,其在大豆低温萌发中的变化尚未见有报道。本实验测定结果表明,低温萌发进程中三个类型大豆品种种子中可溶性蛋白含量都有不同程度的增加。耐冷性强的超早熟品种Aldana和极早熟品种Ch21332低温下可溶性蛋白含量大幅提高,其相应的各种功能蛋白就多,抵抗逆境伤害的能力也强,另外,可溶性蛋白中的非功能蛋白含量的提高会增加细胞液的渗透浓度,也有利于维持细胞的正常代谢。

综上所述我们认为:可以CAT酶活和可溶性蛋白含量作为大豆品种萌发期间耐冷性筛选的生理参照指标;品种熟期类型有可能作为大豆品种萌发期间耐冷性筛选的新农艺指标。

## 参 考 文 献

- 1 邹琦、郭蔼光、梁作勤等, 植物生理生化实验指导, 北京: 中国农业出版社, 1995 70- 72; 76- 77
- 2 赵世杰、许长成、邹琦等, 植物组织中丙二醛测定方法的改进, 植物生理学通讯, 1994 30(3): 207- 210
- 3 Omran, R. C. Peroxide levels and the activity of catalase, Peroxidase and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. Plant Physiol 1980 65 407- 408
- 4 Tylor, A. O. et al., Plants under climatic stress, IV Chilling and light effects on photosynthetic enzymes of sorghum and Maize. Plant Physiol. 1974: 54: 696- 701
- 5 陈贻竹、B帕特森, 低温对植物叶片中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化氢水平的影响, 植物生理学报, 1988 14 (4): 323- 328
- 6 王以柔、刘鸿先、李平等, 在光照和黑暗条件下低温对水稻幼苗光合器官膜脂过氧化作用的影响, 植物生理学报, 1986 12 244- 250
- 7 戴金平、沈征言、简令成, 低温锻炼对黄瓜幼苗几种酶活性的影响, 植物学报, 1991 33(8): 627- 632
- 8 王爱国、邵从本、罗广华, 丙二醛作为植物脂质过氧化指标的探讨, 植物生理学通讯, 1986B 2 55- 57
- 9 梁镇林、朱文适、梁慕勤等, 大豆种子萌发过程中脂肪酸组分的变异、变化和相互关系, 贵州农业科学, 1990 6 13 - 19
- 10 张毅、顾慰连、戴俊英, 低温对玉米光合作用、超氧化物歧化酶活性和籽粒产量的影响, 作物学报, 1992 18(5): 397 - 400
- 11 汤章城、王学臣, 植物抗逆性的若干细胞生物学基础, 见: 中国植物生理学会第七次全国会议学术论文汇编, 太原, 1996 16- 19
- 12 李俊明、耿庆汉, 低温下玉米不同耐冷类型自交系的生理生化变化, 华北农学报, 1989 4(2): 15- 19

## COMPARATIVE STUDY ON THE COLD TOLERANCE OF THREE MATURITY TYPE SOYBEAN SEEDS DURING THE COURSE OF GERMINATION

Zhang Sihe<sup>1</sup> Wang Hng<sup>2</sup> Ma Shuying<sup>2</sup> Song Haixing<sup>2</sup> Tao Dan<sup>2</sup> Yin Tianfu<sup>2</sup>

(1. Faculty of Preclinical Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032

2. Faculty of Agronomy, University of Agriculture and  
Animal Sciences of PLA, Changchun 130062)

**Abstract** The physiological index difference of cold tolerance among three maturity type of soybean was studied during the course of germination by Controlled low temperature stress. The results showed that two early variety's CAT enzyme activity inhibition was smaller, increment of soluble protein content was larger than those of the late- middle variety. But variation of MDA content did not coincide with variation tendency of variety maturity. The early maturity variety's adaptation to low temperature stress was stronger than that of late- middle maturity varieties.

**Key words** Soybean (*G. max*); Cold tolerance; Maturity