

模拟田间劣变对生理成熟期春大豆植株生长及种子活力的影响

舒英杰^{1,2}, 周玉丽¹, 陶源², 王爽², 杨艳², 张国敏², 麻浩²

(1. 安徽科技学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 南京农业大学 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要:以田间劣变抗性品种湘豆3号和不抗品种宁镇1号为试材, 采用盆栽方式, 通过模拟发生田间劣变的逆境, 研究了高温高湿胁迫[40℃/30℃、RH95%~100%/70%、10 h/14 h(白天/黑夜)]对春大豆生理成熟期豆荚和茎叶生长量及种子活力的影响。结果表明:短时间(<24 h)的高温高湿胁迫对2个大豆品种豆荚和茎叶的生长量影响不明显, 胁迫48 h后, 不抗品种宁镇1号豆荚和茎叶生长受抑制程度明显大于抗性品种湘豆3号;与对照相比, 高温高湿胁迫后2个大豆品种的发芽势、发芽率、简易活力指数以及脱氢酶和酸性磷酸酶活性均呈下降趋势, 并随胁迫时间的延长下降幅度增大, 在各个胁迫时间点, 不抗品种宁镇1号各测试指标的降幅均显著大于抗性品种湘豆3号。

关键词:春大豆; 高温高湿; 田间劣变; 种子活力指标

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2013)05-0635-05

Effect of Simulated Pre-harvest Deterioration Stress on Plant Growth and Seed Vigor of Spring Soybean at Physiological Maturity Stage

SHU Ying-jie^{1,2}, ZHOU Yu-li¹, TAO Yuan², WANG Shuang², YANG Yan², ZHANG Guo-min², MA Hao²

(1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China; 2. State key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Pre-harvest seed deterioration-resistant soybean *cv.* Xiangdou 3 and pre-harvest seed deterioration-sensitive soybean *cv.* Ningzhen 1 were used to study the effect of high temperature and high humidity stress (40℃/30℃, 100%/70% humidity (RH), and 10 h/14 h cycle (light/dark) for 5, 10, 16, 24, 48, 96 and 168 h, respectively) on plant growth and seed vigor indexes of spring soybean at physiological maturity stage. The results showed that pod and stem leaf mass growth of Xiangdou 3 and Ningzhen 1 had no significant difference at the short time (<24 h) stress, while, when the stress time exceeded 48 h, the growth of pod and stem leaf of Ningzhen 1 were restrained more serious than Xiangdou 3. The germination energy, germination percentage, simple vigor index, dehydrogenase activity and acid phosphatase activity of Xiangdou 3 and Ningzhen 1, compared with control, were reduced with high temperature and high humidity stress, and the reduce extent increased with the stress time elongation, on the whole, the tested indexes of pre-harvest seed deterioration-sensitive soybean *cv.* Ningzhen 1 were reduced more seriously than those of pre-harvest seed deterioration-resistant soybean *cv.* Xiangdou 3.

Key words: Spring soybean; High temperature and high humidity; Pre-harvest seed deterioration; Seed vigor index

种子生理成熟后, 种子活力会出现不可逆的下降, 这些不可逆变化的综合效应称为劣变或老化^[1]。劣变老化的种子萌发速度慢、发芽率低、出苗率低、畸形苗增多、抗逆能力差, 严重影响农业生产。根据发生的时期, 种子劣变通常可分为3种类型, 一是种子生理成熟期不适宜的生物(病虫害)和非生物条件(如高温高湿、干旱、冻害、盐害等)导致的收获前劣变(田间劣变); 二是收获过程中由于收获或晾晒方式不当导致的收获期劣变; 三是加工、运输和贮藏过程中操作不当导致的收获后劣变^[1-3]。

大豆[*Glycine max* (L.) Merrill]是世界上重要的粮油兼用作物, 由于富含蛋白质和脂肪, 种子极易发生劣变。我国南方春大豆种子发育成熟期常处于高温多雨季节, 在生理成熟期(R7期)便开始发生田间劣变, 而且田间劣变在大豆种子整个劣变中占主导地位^[3-6]。大豆种子田间劣变在世界各地大

豆主产区普遍发生^[7], 可导致大豆种子发芽率和活力降低、耐贮藏性下降、外观品质和营养品质变劣^[8-9], 严重影响大豆产业的发展。

目前有关大豆种子劣变的研究多集中在收获后(贮藏期间)劣变的生理生化变化、环境条件对种子劣变的影响、劣变的品种间差异等方面^[10-12]。研究表明, 大豆种子的劣变抗性除了受成熟期间的气候条件及贮藏条件影响外, 还与品种本身的遗传特性有关, 品种间抗性差异是稳定遗传的; 收获前劣变抗性与收获后抗性间并无一致关系^[6, 12-14]。而有关春大豆种子田间劣变方面的相关研究较少^[15], 为此以课题组筛选出的田间劣变抗性不同的2个春大豆品种为材料, 通过模拟高温高湿逆境, 研究田间劣变对春大豆生理成熟期豆荚和茎叶生长及种子活力的影响, 旨在为开展春大豆种子田间劣变研究提供更多的理论支撑。

收稿日期: 2013-05-10

基金项目: 国家自然科学基金(31101212, 31171572, 30971840); 安徽省教育厅高等学校省级优秀青年人才基金(2012SQRL143)。

第一作者简介: 舒英杰(1977-), 男, 副教授, 主要从事大豆种子发育与遗传控制研究。E-mail: xuanxuan051010@163.com。

通讯作者: 麻浩(1965-), 男, 教授, 主要从事种子科学与大豆遗传育种研究。E-mail: lq-ncsi@njau.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 试验设计

选用项目组前期从我国 92 份南方春大豆种质资源中经过温箱蚀化和甲醇胁迫法鉴定出的田间劣变抗性品种湘豆 3 号和不抗品种宁镇 1 号^[4]为试材。于 2012 年 5 月 2 日播种于花盆 (23 cm × 16 cm/上口口径 × 高) 中, 每盆保苗 3 株, 常规管理。待生理成熟期 (R7 期), 连同花盆将大豆植株放置于植物生长室。

待供试材料至 R7 期, 每品种将长势一致的植株分为两组, 一组模拟田间劣变进行高温高湿处理: 40℃/30℃、RH95% ~ 100%/70%、10 h/14 h (白天/黑夜), 另一组为对照 (CK): 30℃/20℃、RH75%/70%、10 h/14 h (白天/黑夜), 处理时间设为 5, 10, 16, 24, 48, 96 和 168 h, 每个时间点处理 5 盆, 于各个处理结束时分别进行植株生物量测定并剥取种子进行发芽试验。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 生物量测定 胁迫结束后各处理取 10 株, 分别测定豆荚和地上部分茎叶的干重, 105℃ 杀青 1 h, 85℃ 烘至恒重后称重。

1.2.2 发芽相关指标测定 采用沙床标准发芽法, 每处理 3 次重复, 每重复 50 粒, 以露出沙面 1 cm 为发芽标准。逐日统计发芽粒数, 按我国农作物种子发芽规定, 第 5 天统计种子发芽势, 第 8 天统计发芽率, 并计算简易活力指数。发芽势 (%) = 第 5 天发芽种子数/供试种子数 × 100; 发芽率 (%) = 第 8 天

发芽种子数/供试种子数 × 100; 简易活力指数 (VI) = 发芽率 (%) × 幼苗长度 (cm)。

1.2.3 相关酶活性的测定 取各处理萌动的种子测定脱氢酶和酸性磷酸酶的活性, 3 次重复。脱氢酶活性的测定采用 TTC 定量法, 酸性磷酸酶活性的测定采用对硝基苯磷酸二钠比色法^[16]。

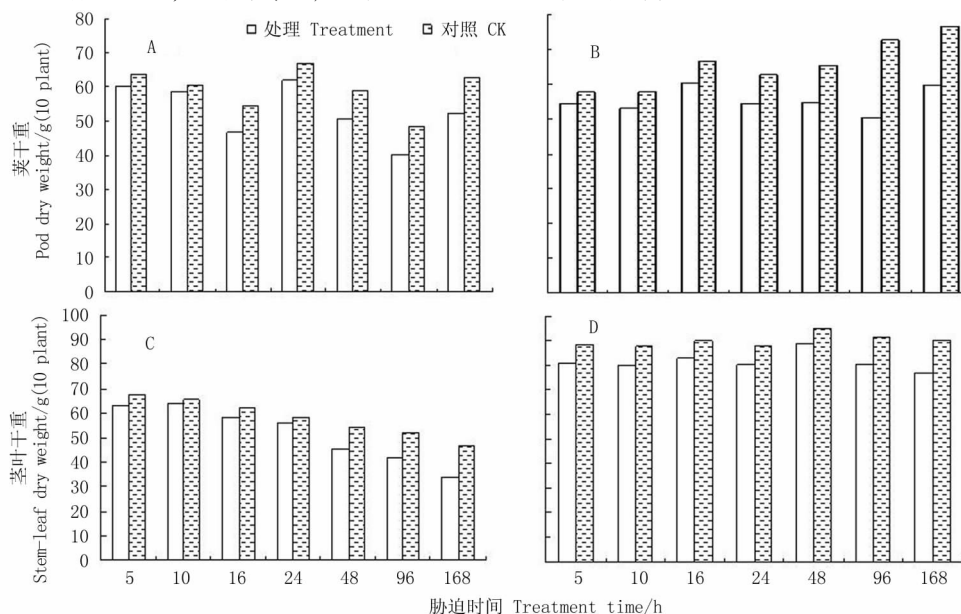
1.3 数据分析

采用 Excel 2003 进行数据处理和绘图, DPS v7.05 Duncan 新复极差测验进行显著水平的多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆豆荚和茎叶生长的影响

生理成熟期的春大豆经高温高湿胁迫后豆荚和茎叶生长受到不同程度的影响 (图 1)。短时间 (<24 h) 的高温高湿胁迫对 2 个春大豆品种豆荚和茎叶的生长影响不明显; 胁迫时间超过 48 h 后, 与对照相比, 不抗品种宁镇 1 号豆荚和茎叶生长受抑制程度明显高于抗性品种湘豆 3 号。不抗品种宁镇 1 号经 48 h 胁迫后植株叶片变黄、脱落, 其中豆荚 (图 1A) 和茎叶 (图 1C) 干重与对照相比均明显降低, 并随着胁迫时间的延长降低的幅度增大, 48, 96 和 168 h 豆荚干重分别下降 14.03%、16.40% 和 22.50%, 茎叶干重分别下降 16.91%、19.23% 和 22.5%。抗性品种湘豆 3 号胁迫 96 h 后植株生长才明显受到抑制, 96 和 168 h 豆荚干重分别下降 13.70% 和 14.41%, 茎叶干重比对照分别下降 12.14% 和 14.25%。



A, C 代表宁镇 1 号; B, D 代表湘豆 3 号; 下同。

A and C represent Ningzhen 1; B and D represent Xiangdou 3. The same below.

图 1 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆生长的影响

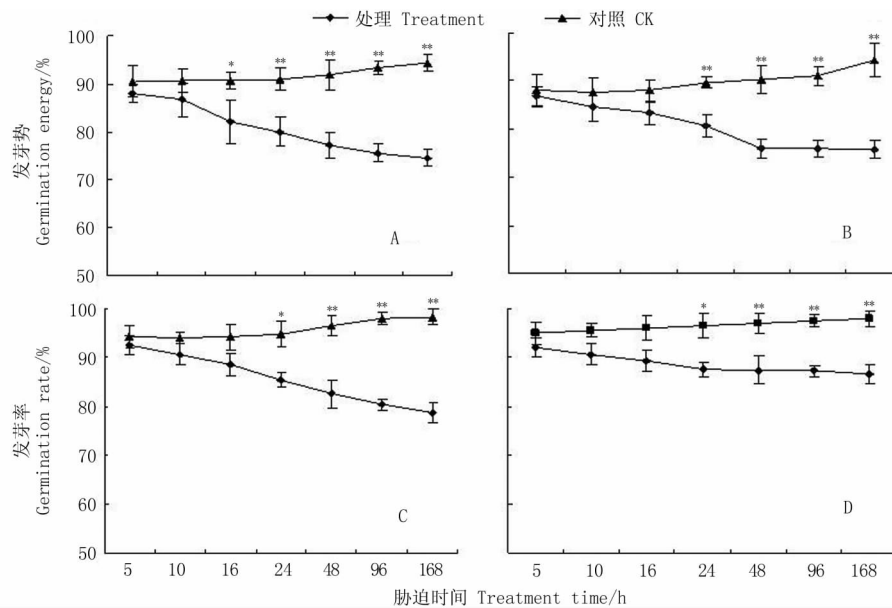
Fig. 1 Effect of simulated pre-harvest deterioration on growth of spring soybean in physiological maturity stage

2.2 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆种子发芽的影响

2.2.1 发芽势和发芽率 模拟田间劣变对生理成

熟期春大豆种子发芽势和发芽率有显著影响。由图 2 可知: (1) 随高温高湿胁迫时间的延长, 2 个大豆品种处理的发芽势和发芽率均呈下降趋势, 而对

照略呈上升趋势。这可能是由于受到高温高湿逆境胁迫,使本具备发芽能力的种子的发芽势和发芽率降低。(2)在各时间点,处理的发芽势和发芽率均低于对照,在处理前期(<16 h)差异不明显,24 h 后差异达显著或极显著水平。(3)处理 24 h 后,各时间点,处理与对照相比,抗性品种湘豆 3 号(B 和 D)发芽势和发芽率下降的幅度小于不抗品种宁镇 1 号(A 和 C)。



* 表示差异达 $P < 0.05$ 显著水平; ** 表示差异达 $P < 0.01$ 著水平;下同。

* represents significantly different at 0.05 level; ** represents significantly different at 0.01 level. The same below.

图 2 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆种子发芽势和发芽率的影响
Fig. 2 Effect of simulated pre-harvest deterioration on germination energy and germination rate of spring soybean seed in physiological maturity stage

2.2.2 简易活力指数 无论是抗性品种还是不抗品种,对照的简易活力指数随着胁迫时间的延长呈上升趋势,高温高湿胁迫处理的呈下降趋势(图 3);在每个胁迫时间点,处理的简易活力指数均低于对照,特别是胁迫 48 h 后二者的差异达显著或极显著

水平;高温高湿胁迫 24, 48, 96 和 168 h, 与对照相比, 宁镇 1 号发芽势分别下降了 12.09%、15.98%、19.00% 和 20.92%, 发芽率分别下降了 10.09%、14.33%、18.03% 和 20.00%; 湘豆 3 号发芽势分别下降了 10.04%、15.87%、16.48% 和 19.64%; 发芽率分别下降了 9.12%、9.79%、10.43% 和 11.56%。

水平;高温高湿胁迫 24, 48, 96 和 168 h, 不抗品种宁镇 1 号的简易活力指数分别比对照下降了 14.02%、23.89%、23.17% 和 29.62% (图 3A), 抗性品种湘豆 3 号分别比对照下降 5.37%、4.71%、8.26% 和 13.01% (图 3B)。

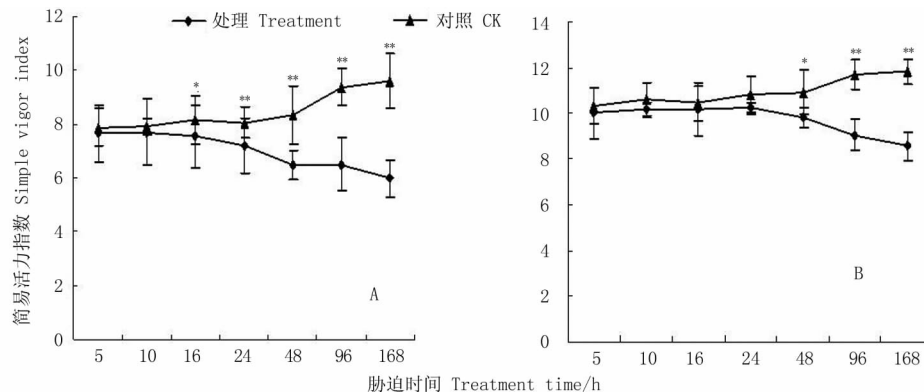


图 3 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆种子简易活力指数的影响

Fig. 3 Effect of simulated pre-harvest deterioration on simple vigor index of spring soybean seed in physiological maturity stage

2.3 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆萌发种子相关酶活性的影响

从图 4 和图 5 可知,随胁迫时间的延长,2 个春大豆品种处理和对照的萌发种子脱氢酶和酸性磷

酸酶活性均呈下降趋势;各时间点处理的酶活性均低于对照,宁镇 1 号胁迫 16 h(脱氢酶)或 24 h(酸性磷酸酶)后差异达显著或极显著水平;相同时间点,处理与对照相比,酶活性的降幅抗性品种小于

不抗品种,胁迫 16, 24, 48, 96 和 168 h 后,抗性品种脱氢酶活性比对照分别下降 9.83%、10.79%、16.67%、30.63% 和 31.39%,不抗品种分别下降了 14.46%、20.06%、25%、41.14% 和 47.69%,抗性品

种酸性磷酸酶活性比对照分别下降 6.14%、5.37%、4.71%、8.26% 和 13.01%,不抗品种分别比对照下降 6.90%、14.02%、23.89%、23.17%、29.62%。

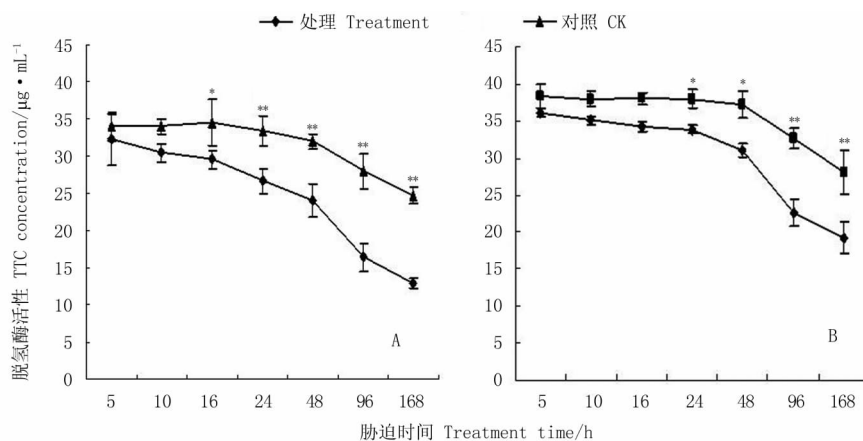


图4 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆萌发种子脱氢酶活性的影响

Fig.4 Effect of simulated pre-harvest deterioration on dehydrogenase activity of spring soybean germinating seed in physiological maturity stage

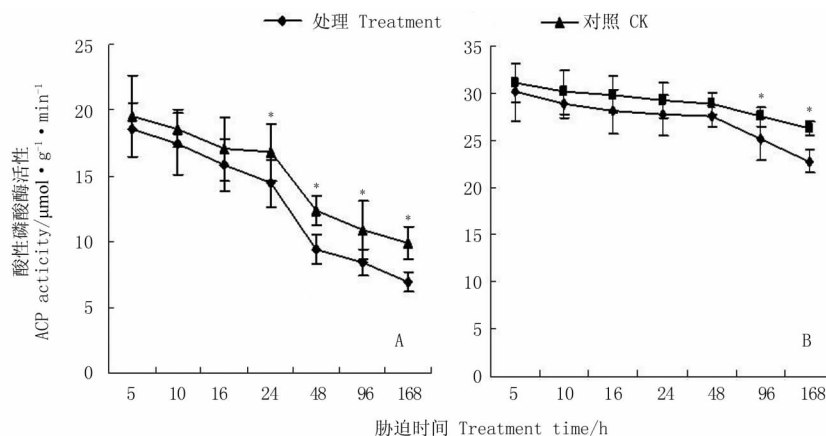


图5 模拟田间劣变对生理成熟期春大豆萌发种子酸性磷酸酶活性的影响

Fig.5 Effect of simulated pre-harvest deterioration on acid phosphatase activity of spring soybean germinating seed in physiological maturity stage

3 讨论

3.1 春大豆种子田间劣变抗性的鉴定方法

从 20 世纪 70 年代非州热带地区引种大豆时出现种子劣变现象以来,种子劣变已成为制约大豆种子生产的一大障碍,鉴于此,国际热带研究中心对大豆收获前、收获后种子劣变,劣变抗性鉴定方法,以及抗性遗传育种等进行了较为系统的研究^[6]。我国学者对大豆(春大豆)种子劣变影响因素(品种、播季、播期、不同收获期及贮藏方法)^[17]、种子劣变生理生化变化^[9]、种子劣变抗性鉴定方法^[10,16]等进行了研究。

大豆抗种子劣变性的鉴定可用自然贮藏法、高温高湿加速老化法和甲醇胁迫法等,这些方法均是鉴定收获后劣变抗性的方法,而大豆种子田间劣变

在整个劣变中起主导作用,但田间劣变抗性的鉴定方法目前只能采用高温高湿模拟胁迫法,这个方法的关键是胁迫强度和胁迫时间的确定,即胁迫时的温湿度和胁迫时间长短。国际热带作物研究所采用 RH75%、40℃ 老化 6 周的方法鉴定大豆种子的抗劣变性,而寿惠霞等^[18]认为 RH100%、40℃ 老化 1 周是鉴定大豆种子抗劣变性的最佳方法,吴聚兰等^[19]研究结果表明 RH100%、40℃ 老化 36 ~ 60 h 为宜。本试验研究表明,40℃/30℃、RH95% ~ 100%/70%、10 h/14 h(白天/黑夜)胁迫 48 h 后抗性品种和不抗品种从植株生长、种子发芽势、发芽率、简易活力指数及萌发种子脱氢酶和酸性磷酸酶活性均存在显著差异,说明 40℃/30℃、RH95% ~ 100%/70%、10 h/14 h(白天/黑夜)胁迫 48 h 可以作为鉴定春大豆种子田间劣变抗性的方法。

吴聚兰等^[19]在研究人工老化对大豆种子活力

和生理生化特性的影响时发现,丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)及谷胱甘肽还原酶(GR)活性的变化与种子活力出现快速下降非常一致,可作为指示生理指标监测大豆种子的劣变状况。孟祥栋^[17]研究表明,种子活力与 POD 活性、POD 同工酶、酯酶(EST)同工酶关系密切。脱氢酶是萌发种子呼吸过程中的一类重要的催化剂,其活性大小与种子呼吸强弱和种子活力呈正相关;酸性磷酸酶在种子萌发过程中参与磷的水解和转运,其活性大小反映种子活力的高低。本研究表明,萌发春大豆种子脱氢酶和酸性磷酸酶活性与种子发芽指标变化趋势一致,抗性品种这 2 种酶活性高,不抗品种酶活性低,故脱氢酶和酸性磷酸酶活性可以作为春大豆种子田间劣变抗性的鉴定指标。

3.2 春大豆种子田间劣变的预防

春大豆种子田间劣变在整个劣变中起主导作用,如何克服田间劣变生产高活力的种子是春大豆种子生产中急需解决的问题。唐善德等^[6]曾提出提早播种可以显著提高易发生田间劣变春大豆品种的种子质量,对易劣变的春大豆品种还可采用秋播生产种子。研究表明大豆种子田间劣变抗性和收获后劣变抗性不存在一致关系^[6,12-14],所以培育既抗田间种子劣变又抗收获后种子劣变的春大豆品种显得尤为重要。本实验室在筛选出抗田间劣变春大豆品种的基础上^[4],从生理生化、代谢组学和蛋白质组学等方面对春大豆种子田间劣变抗性机理进行了研究^[15],并通过回交方法进行了春大豆田间劣变抗性品种的选育,目前正通过转基因手段试图从基因组和转录组水平揭示春大豆种子田间劣变抗性的机理。

参考文献

- [1] Ndimande B N, Wien H C, Kueneman E A. Soybean seed deterioration in the tropics. I. The role of physiological factors and fungal pathogens[J]. Field Crops Research, 1981, 4: 113-121.
- [2] Wien H C, Kueneman E A. Soybean seed deterioration in the tropics. II. Varietal differences and techniques for screening[J]. Field Crops Research, 1981, 4: 123-132.
- [3] 王芳,王丽群,田鑫,等. 中国南方春大豆收获前后种子劣变的抗性研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(11): 2637-2647. (Wang F, Wang L Q, Tian X, et al. Pre-harvest and post-harvest seed deterioration resistance of spring soybean germplasm in South China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(11): 2637-2647.)
- [4] Narayan R, Chauhan G S, Verma N S. Changes in the quality of soybean during storage. Part I Effect of storage on some physico-chemical properties of soybean [J]. Food Chemistry, 1988, 27: 13-23.
- [5] 唐善德,黄敏珍,成金莲. 春大豆种子劣变的研究[J]. 大豆科学, 1994, 13(3): 230-236. (Tang S D, Huang M Z, Cheng J L. A study on seed deterioration in spring soybean [J]. Soybean Science, 1994, 13(3): 230-236.)
- [6] Tang G X, Song W J, Xu L, et al. Sowing seasons and drying methods during post-harvest influence the seed vigour of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2006, 28: 273-280.
- [7] Saha R R, Sultana W. Influence of seed ageing on growth and yield of soybean [J]. Bangladesh Journal of Botany, 2008, 37: 21-26.
- [8] Gibson L R, Mullen R E. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature [J]. Crop Science, 1996, 36: 1615-1619.
- [9] 乔燕祥,周建萍,田齐建,等. 大豆种子老化过程中生理特性变化的研究[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(5): 616-620. (Qiao Y X, Zhou J P, Tian Q J, et al. Changing of physiological characteristics of soybean seeds in aging course [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2010, 11(5): 616-620.)
- [10] 寿惠霞,宋文坚. 大豆种子抗劣变性的鉴定方法研究[J]. 种子, 1999(2): 3-5. (Shou H X, Song W J. Studies on evaluating methods of the resistance to seed deterioration of soybean [J]. Seed, 1999(2): 3-5.)
- [11] Zanakis G N, Ellis R H, Summerfield R J. A comparison of changes in vigour among three genotypes of soybean (*Glycine max*) during seed development and maturation in three temperature regimes [J]. Experimental Agriculture, 1994, 30: 157-170.
- [12] Singh R K, Hari H R. Inheritance study of soybean seed storability using an accelerated aging test [J]. Field Crops Research, 1986, 13: 89-98.
- [13] Bhattacharya K, Raha S. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage [J]. Mycopathologia, 2002, 155: 135-141.
- [14] Wang L Q, Ma H, Song L R, et al. Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stress [J]. Journal of Proteomics, 2012, 75: 2109-2127.
- [15] 尹燕桦,董学会. 种子学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 69-71, 87-89. (Yin Y P, Dong X H. Experiment technology of seed science [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008: 69-71, 87-89.)
- [16] 李小红,谢运河,阳小凤,等. 春大豆种子抗劣变性鉴定方法研究[J]. 湖南农业科学, 2012(23): 13-14, 18. (Li X H, Xie Y H, Yang X F, et al. Evaluating methods of seed deterioration resistance of spring soybean [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2012(23): 13-14, 18.)
- [17] 孟祥栋. 菜用大豆种子劣变与生理生化变化的关系[J]. 大豆科学, 1993, 12(3): 259-264. (Meng X D. Relationship between seed deterioration and physiological and biochemical change of vegetable soybean [J]. Soybean Science, 1993, 12(3): 259-264.)
- [18] 寿惠霞,宋文坚,张刚,等. 栽培与野生大豆资源抗种子劣变性差异的研究[J]. 大豆科学, 1998, 17(1): 59-64. (Shou H X, Song W J, Zhang G, et al. Study on the difference of resistance to seed deterioration between cultivated and wild soybean genotypes [J]. Soybean Science, 1998, 17(1): 59-64.)
- [19] 吴聚兰,周小梅,范玲娟,等. 人工老化对大豆种子活力和生理生化特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(6): 582-587. (Wu J L, Zhou X M, Fang L J, et al. Effects of artificial aging on seed vigor, physiological and biochemical characteristics of soybean seeds [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(6): 582-587.)