

## 硒浸种对大豆种子萌发的生理生化效应

何士敏, 秦家顺, 吴 刚

(长江师范学院 生命科学与技术学院, 重庆 408100)

**摘 要:**为探索硒浸种对大豆种子萌发的生理生化效应,研究了不同浓度的硒溶液浸种后,大豆种子的萌发率和发芽指数的变化及大豆种子萌发期SOD、POD和PPO活性的变化。结果表明:适当浓度的硒浸种,可以提高大豆种子的萌发率、发芽指数、大豆种子萌发期SOD、POD和PPO活性。硒浸种处理大豆的最适宜浓度为 $0.05\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。当硒浓度大于 $0.05\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时大豆的萌发生长受到抑制,酶活性降低。

**关键词:**硒;大豆;萌发;酶活性

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2011)01-0158-03

## Physiological and Biochemical effect of Se Soaking on Soybean Seed Germination

HE Shi-Min, QIN Jia-Shun, WU Gang

(Department of Life Science and Technology, Changjiang Teacher's College, Chongqing 408100, China)

**Abstract:** In order to study the physiological and biochemical effects of Se soaking on soybean seed germination. Germination rate, germination index and activities of SOD, POD and PPO of soybean seed with different Se concentrations were studied. The results showed that suitable Se concentration seed soaking could raise the germination rate and index, and also enhance the activities of SOD, POD and PPO. The most suitable Se concentration of seed soaking was  $0.05\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . When Se concentration was higher than  $0.05\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , soybean seed germination was inhibited and the three enzymes activities decreased.

**Key words:** Se; Soybean; Germination; Enzymatic activity

植物体内硒活性的研究始于20世纪70年代,至今已取得了一定的研究成果。研究者对植物体内硒的分布规律、储存形态及分离纯化方法进行了研究,以期对植物体内硒活性物质的深入研究和深加工提供参考依据<sup>[1-2]</sup>。大量研究表明,硒能被植物主动吸收,并在各功能器官积累,硒介入了植物体旺盛的新陈代谢,对植物的生长发育产生重要影响。硒浸种是让大豆富硒的一种普遍方法,可以促进大豆生长<sup>[3]</sup>。在实际生产中掌握适宜的硒浸种浓度非常关键,该文研究了硒浸种对大豆种子萌发的影响以及种子萌发过程中SOD、POD和PPO活性的变化情况,筛选出最佳的硒浸种浓度,旨在为富硒大豆的生产实践提供参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

供试材料为‘台湾292’、‘美国0817’和‘四川康百年’3个大豆品种,由涪陵何亚种子公司提供。

#### 1.2 测定项目与方法

**1.2.1 种子的萌发** 18个洗净的培养皿分组编号,每培养皿中放入30粒大豆种子(40%福尔马林250倍液,浸种消毒5 min),每个品种3次重复。分别用 $0.01$ 、 $0.03$ 、 $0.05$ 、 $0.07$ 和 $0.09\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硒酸钠溶液浸泡12 h,以蒸馏水浸种为对照。将浸泡后的种子洗净,置于经高压灭菌、垫有2层湿润纱布的培养皿中,并加入适量蒸馏水<sup>[4]</sup>,在室温( $23^{\circ}\text{C}$ 左右)条件下进行萌发,记录每天发芽种子数并计算发芽率和发芽指数。发芽率=发芽种子数/种子总数;发芽指数=T时间的发芽数/相应的发芽天数。

**1.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性** SOD酶液的制备:称取经处理的种子萌发的芽 $0.2\text{ g}$ ,加 $3\text{ mL}$  Tris-HCl缓冲液,于研钵中冰浴研磨成匀浆,以 $8\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 $10\text{ min}$ (冷冻离心机,CR22GII,日本日立公司),收集上清液作为酶液于冰箱中保鲜备用。邻苯三酚自氧化速率的测定和SOD样品液的活性测定,参照张志良等的方法进行<sup>[5]</sup>。

收稿日期:2010-08-22

基金项目:长江师范学院立项建设学科资助项目。

第一作者简介:何士敏(1955-),女,教授,主要从事生物化学教学与科研工作。E-mail:heshimin5589@sina.com。

1.2.3 过氧化物酶(POD)活性 酶液的提取:称取经处理的种子萌发的芽0.15 g,加20 mmol·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5 mL,于研钵中冰浴,研磨成匀浆,以4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,收集上清液(酶液)保存在4℃冰箱中备用。

酶活性的测定:取光径1 cm 比色杯2只,1只中加入反应混合液3 mL和KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mL作为对照,另1只中加入反应混合液3 mL,上述酶液0.5 mL,立即开启秒表计时,于分光光度计(U-1800型紫外可见分光光度计,日立公司)470 nm波长下测量OD值,每隔1 min读数1次,共读5次。酶活性以平均每分钟OD变化表示酶活性大小,即以 $\Delta OD_{470} \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$ 表示。

1.2.4 多酚氧化酶(PPO)活性 取处理后的种子萌发芽0.2 g,加pH 7.6磷酸缓冲液10 mL,在研钵中冰浴研磨成匀浆转入离心管,以6 000 r·min<sup>-1</sup>离心20 min,其上清液即为酶液。PPO活性测定:取2只光径1 cm的比色杯,1只中加入pH 7.6磷酸缓冲液1 mL和0.2 mol·L<sup>-1</sup>邻苯二酚溶液1 mL,作为校零对照。另1只中加入pH 7.6磷酸缓冲液1 mL,0.2 mol·L<sup>-1</sup>邻苯二酚溶液1 mL,上述酶液0.5 mL,用U-1800型紫外可见分光光度计(日立公司)测定OD<sub>410</sub>值,每5 s记录1次<sup>[4]</sup>。用 $\Delta OD \cdot min^{-1}$ 表示酶活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 硒对三种大豆种子萌发率和发芽指数的影响

从表1、2和3可以看出,硒处理对3种大豆种子的萌发率有明显的影响,适当浓度的硒浸种处理,可以提高大豆种子的萌发率,硒浓度为0.05 mg·L<sup>-1</sup>时,萌发率最高。硒浓度大于0.05 mg·L<sup>-1</sup>时,发芽率受到抑制。其中‘四川康百年’在浓度为0.03~0.05 mg·L<sup>-1</sup>之间时萌发率变化不大,三者在硒浓度为0.07 mg·L<sup>-1</sup>时萌发率相同,3种大豆在硒浓度为0.09 mg·L<sup>-1</sup>时萌发率均低于对照。

此外,不同浓度硒处理的大豆,其萌发指数较对照有明显变化。适当浓度的硒处理可以提高大豆种子的发芽指数,硒浓度为0.03 mg·L<sup>-1</sup>时,‘美国0817’和‘四川康百年’发芽指数明显高于对照并达最大值;硒浓度为0.05 mg·L<sup>-1</sup>时,‘台湾292’发芽指数达最大值并明显高于对照。硒浓度大于0.05 mg·L<sup>-1</sup>时,发芽指数受到抑制并低于对照。3种大豆中‘台湾292’萌发指数最高。‘四川康百年’和‘美国0817’在硒浓度为0.07 mg·L<sup>-1</sup>时萌发指数相同。

### 2.2 不同硒浓度处理对SOD活性的影响

从图1可以看出,适当浓度的硒处理,可以提高大豆种子萌发期SOD的活性,供试的3个大豆的SOD活性在硒浓度为0.05 mg·L<sup>-1</sup>时最高,硒浓度大于0.05 mg·L<sup>-1</sup>时,SOD活性逐渐降低。

表1 不同硒浓度对‘台湾292’种子萌发率和发芽指数的影响

Table 1 Effect of different concentrations Se on germination rate and index of soybean Taiwan292

硒浓度 Se concentration /mg·L <sup>-1</sup>	种子总数 Seeds number	萌发数 Germination number	萌发率 Germination rate/%	萌发天数 Germination days/d	萌发指数 Germination index
CK	30	27	90.00	3	9.0
0.01	30	26	86.67	3	8.7
0.03	30	28	93.33	3	9.3
0.05	30	30	100.00	3	10.0
0.07	30	24	80.00	3	8.0
0.09	30	21	70.00	3	7.0

表2 不同硒浓度对‘美国0817’种子萌发率和发芽指数的影响

Table 2 Effects of different concentrations Se on germination rate and index of soybean USA0817

硒浓度 Se concentration /mg·L <sup>-1</sup>	种子总数 Seeds number	萌发数 Germination number	萌发率 Germination rate/%	萌发天数 Germination days/d	萌发指数 Germination index
CK	30	22	73.33	3	7.33
0.01	30	21	70.00	3	7.00
0.03	30	24	80.00	3	8.00
0.05	30	27	90.00	4	6.80
0.07	30	24	80.00	4	6.00
0.09	30	18	60.00	5	3.60

表3 不同硒浓度对‘四川康百年’种子萌发率和发芽指数的影响

Table 3 Effects of different concentrations Se on germination rate and index of soybean Sichuankangbainian

硒浓度 Se concentration /mg·L <sup>-1</sup>	种子总数 Seeds number	萌发数 Germination number	萌发率 Germination rate/%	萌发天数 Germination days/d	萌发指数 Germination index
CK	30	24	80.00	3	8.0
0.01	30	26	86.67	3	8.7
0.03	30	29	96.67	3	9.7
0.05	30	29	96.67	3	9.7
0.07	30	24	80.00	4	6.0
0.09	30	25	83.33	4	6.3

### 2.3 不同硒浓度处理对POD活性的影响

硒浸种的大豆种子萌发期POD活性较对照有

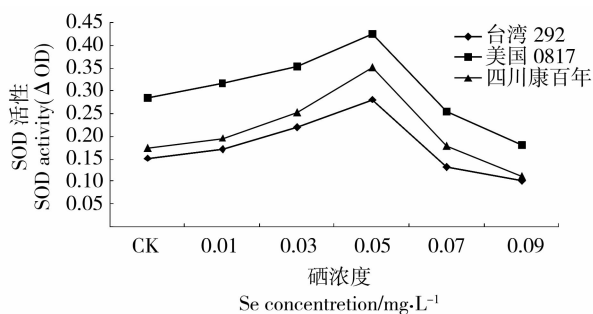


图1 大豆种子萌发期 SOD 活性的变化

Fig.1 SOD activity variations in germinating phase of soybean seed

明显变化。从图2可以看出,3个大豆的 POD 活性在 0.01 ~ 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时呈上升趋势,且在 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时最高,可见,适当浓度的硒溶液浸种可以提高 POD 活性;硒浓度大于 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 后 POD 活性逐渐下降,此时酶活性被抑制。

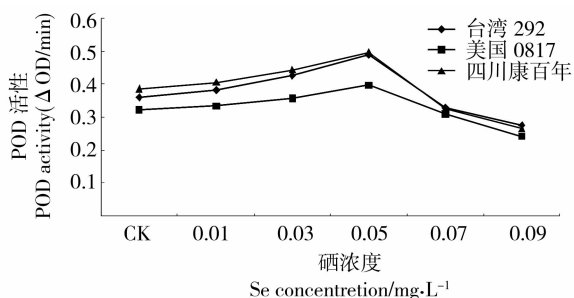


图2 大豆种子萌发期 POD 活性的变化

Fig.2 POD activity variations in germinating phase of soybean seed

#### 2.4 不同硒浓度处理对 PPO 活性的影响

硒浸种的大豆种子萌发期 PPO 活性较对照明显增强。从图3可以看出,低浓度的硒处理可以增强大豆种子萌发期 PPO 的活性,在硒浓度为 0 ~ 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时,3个大豆品种的 PPO 活性呈上升趋势且在 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时活性最高,当硒浓度大于 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时 PPO 活性明显下降,当硒浓度为 0.07 mg · L<sup>-1</sup> 时 PPO 活性开始低于对照。

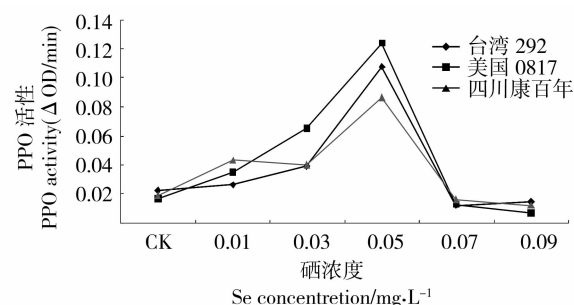


图3 硒处理大豆种子萌发期 PPO 活性的变化

Fig.3 PPO activity variations in germinating phase of soybean seed

### 3 结论与讨论

大量研究表明,硒对植物生长的作用符合一般必需微量营养元素的生物效应规律,即在低浓度时对植物生长有刺激效应,而过量时则对植物的生长产生毒害作用。在该研究中适当浓度的硒浸种,可以提高大豆种子的萌发率和发芽指数,提高大豆种子萌发期 SOD、POD 和 PPO 活性。硒浓度为 0.01 ~ 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时萌发率和发芽指数呈现上升趋势,硒浓度为 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时萌发率和发芽指数达到最大值,硒浓度大于 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时萌发率和发芽指数低于对照,呈现下降趋势;硒浓度为 0.01 ~ 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时 SOD、POD 和 PPO 的活性呈上升趋势,硒浓度为 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时 3 种酶活性达到最大值,硒浓度大于 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 时酶活性低于对照,呈下降趋势。因此,确定大豆最适的硒浸种浓度为 0.05 mg · L<sup>-1</sup>。

### 参考文献

- [1] 陈亮,李桃.元素硒与人体健康[J].微量元素与健康研究,2004,21(3):58-59. (Chen L, Li T. Element Se and human body health[J]. Trace Element and Health Research, 2004, 21(3):58-59.)
- [2] 朱金霞,周文生,郭生虎.植物中微量元素硒的研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(13):3844-3845. (Zhu J X, Zhu W S, Guo S H. Research progress of trace element Se in plant[J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2009, 37(13):3844-3845.)
- [3] 李会芳,白云生,樊文华,等.不同浓度的硒对大豆种子发芽率及幼苗生长的影响[J].山西农业大学学报,2006,26(3):256-258. (Li H F, Bai Y S, Fan W H, et al. Effect on different concentration Se for soybean seed germinate rate and seedling grow[J]. Journal of Shanxi Agricultural University, 2006, 26(3):256-258.)
- [4] Burguera J L, Villasmil L M, Burguera M, et al. Gastric tissue selenium levels in healthy persons, cancer and non-cancer patients with different kinds of mucosal damage[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 1995, 9(3):160-164.
- [5] 郗文娟,许永红,周蕾,等.硒与人体健康研究进展[J].微量元素与健康研究,2009,26(4):59-61. (Xi W J, Xu Y H, Zhou L, et al. Research progress of Se and human body[J]. Trace Element and Health Research, 2009, 26(4):59-61.)
- [6] 何士敏,汪建华,白珍明,等.过氧化氢浸种对大豆种子萌发的生理生化效应[J].大豆科学,2008,27(1):176-180. (He S M, Wang J H, Bai Z M, et al. Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seed soaking on physiological and biochemical character of soybean germinating[J]. Soybean Science, 2008, 27(1):176-180.)

定了蛋脂总量对异黄酮的影响。

野生大豆异黄酮平均含量要高于栽培大豆<sup>[9]</sup>,因此利用黑龙江省丰富的野生大豆资源,创造具有野生大豆血缘的高或低异黄酮种质,可以作为拓宽大豆异黄酮育种途径的有效手段。

影响大豆异黄酮含量的因素很多,不同地点、不同年份及不同环境条件下差异很大,在今后的资源鉴定过程中,应对高或低异黄酮资源进行重复鉴定及分析,依据野生大豆蛋白质和脂肪含量与异黄酮之间的相关性进行种质创新,选育出异黄酮含量高、农艺性状优良、产量与同熟期推广品种相当的品种或品系,从而达到间接选育高异黄酮品种(系)的目的。

### 参考文献

- [1] 陈封政,王雄清,李书华.大豆异黄酮的研究进展[J].乐山师范学院学报,2002,17(4):59-61. (Chen F Z, Wang X Q, Li S H. Advances in studies on isoflavones in soybean[J]. Journal of Leshan Teachers College, 2002, 17(4):59-61.)
- [2] 王康成,蔡军.大豆异黄酮的生物学功能研究进展[J].湖州职业技术学院学报,2004(4):79-81. (Wang K C, Cai J. The progress of research on soybean biological function soybean isoflavones[J]. Journal of Huzhou Vocational and Technological College, 2004(4):79-81.)
- [3] 杨茂区,陈伟,冯磊.大豆异黄酮的生理功能研究进展[J].大豆科学,2006,25(3):320-324. (Yang M Q, Chen W, Feng L. Research progress of biological functions of soybean isoflavone[J]. Soybean Science, 2006, 25(3):320-324.)
- [4] 殷丽君,李里特,李再贵,等.大豆异黄酮的研究近况与展望[J].食品科学,2002,23(4):152-154. (Yin L J, Li S T, Li Z G, et al. Development and expection of research of soybean isoflavone[J]. Food Science, 2002, 23(4):152-154.)
- [5] 杨雪峰,齐宁,林红,等.不同类型大豆蛋白质、脂肪含量与异黄酮含量的相关性研究[J].大豆科学,2007,26(5):705-708. (Yang X F, Qi N, Lin H, et al. Correlation between isoflavones content and protein and oil content in different soybean germplasms[J]. Soybean Science, 2007, 26(5):705-708.)
- [6] 林红,来永才,齐宁,等.黑龙江省野生大豆、栽培大豆高异黄酮种质资源筛选[J].植物遗传资源学报,2005,6(1):53-55. (Lin H, Lai Y C, Qi N, et al. Screening of germplasm with high content of isoflavones in wild and cultivated soybean in Heilongjiang[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(1):53-55.)
- [7] 刘广阳,齐宁,林红,等.大豆异黄酮含量与品质性状相关性分析[J].大豆科学,2008,27(4):701-707. (Liu G Y, Qi N, Lin H, et al. Analysis of correlation between isoflavones and quality of soybean[J]. Soybean Science, 2008, 27(4):701-707.)
- [8] 孙君明,丁安林,东惠茹.高效液相色谱(HPLC)技术检测大豆异黄酮含量[J].大豆科学,2000,19(1):15-20. (Sun J M, Ding A L, Dong H R. High performance liquid chromatographic determination of isoflavone content in soybean test samples[J]. Soybean Science, 2000, 19(1):15-20.)
- [9] 李炜,来永才,毕远林,等.黑龙江省野生大豆高异黄酮新种质创新利用研究Ⅱ异黄酮含量与大豆品质相关性的分析[J].大豆科学,2007,26(3):319-321. (Li W, Lai Y C, Bi Y L, et al. Innovation and utilization of new high isoflavone resource of wild soybean in Heilongjiang Ⅱ Analysis of relationship between isoflavone content and quality of soybean[J]. Soybean Science, 2007, 26(3):319-321.)
- [7] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导(第三版)[M].北京:高等教育出版社,2005:268-271. (Zhang Z L, Qu W L. The experimental guide for plant physiology, Third edition[M]. Beijing: Higher Education Press, 2005:268-271.)
- [8] 唐巧玉,吴永尧,周毅峰.硒对大豆生长和某些生理生化指标的影响[J].植物生理学通讯,2008,41(1):53-54. (Tang Q Y, Wu Y Y, Zhou Y F. Effect of seon soybean growth, some physiological and biochemical target[J]. Plant Physiology Communications, 2008, 41(1):53-54.)
- [9] 吴茂江.硒与人体健康[J].微量元素与健康研究,2007,24(1):44-46. (Wu M J. Se and human body health[J]. Trace Element and Health Research, 2007, 24(1):44-46.)
- [10] 王淑荣.硒与人体健康[J].渭南师范学院学报,2003,18(2):58-60. (Wang S R. Se and human body health[J]. Weinan Journal of Teachers' College, 2003, 18(2):58-60.)
- [11] 吴军,刘秀芳,徐汉生.硒在植物生命活动中的作用[J].植物生理学通讯,1999,35(5):471-423. (Wu J, Liu X F, Xu H S. Action of Se in the plant biological activities[J]. Plant Physiology Communications, 1999, 35(5):471-423.)