

春大豆种子形成过程中 β -淀粉酶的作用及与胎萌的关系

高 会^{1,2}, 王美娥³, 赵叶舟^{1,2}, 汪自强^{1,2}

(1. 浙江大学 农业与生物技术学院, 浙江 杭州 310058; 2. 无锡-浙江大学生物农业研究中心, 江苏 无锡 214104; 3. 中国科学院 生态环境研究中心, 北京 100086)

摘要:以7个春大豆品种为材料,对其发育特性、发育过程中 β -淀粉酶的作用和胎萌发生的关系进行研究。结果表明:大豆发芽指数从满粒期到始熟期迅速上升,完熟期前达到最高。发芽力与种子干重呈极显著正相关。 β -淀粉酶活性随种子发育和干物质的积累而增加,随种子萌动而下降,其活性与不易胎萌品种的发芽率和发芽指数呈正相关,与易胎萌品种呈负相关。4个易胎萌的品种中,95-1和9701胎萌于满粒期,发芽率达60%以上;华春18和矮脚早于始熟期胎萌,发芽率超过80%。始熟期后,发生胎萌的种子内 β -淀粉酶活性有所下降。发生胎萌的大豆种子其干物质质量和发芽率大幅度下降。

关键词:春大豆;种子发育; β -淀粉酶;胎萌

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2013)06-0768-05

Role of β -amylase in Seed Development and Relation to Pre-harvest Sprouting in Spring Soybean

GAO Hui^{1,2}, WANG Mei-e³, ZHAO Ye-zhou^{1,2}, WANG Zi-qiang^{1,2}

(1. College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Wuxi-Bio-Agriculture Research Center of Zhejiang University, Wuxi 214104, China; 3. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Scientific Academy of Sciences, Beijing 100086, China)

Abstract: The objectives were to research development characteristics of seven spring soybean varieties, and the role of β -amylase during seed development, as well as the relationship between precocious germination and β -amylase activity. The results showed that the germination index of soybean seeds increased rapidly from full seed-filling to beginning maturity, and maximized at full maturity. The germination ability significant positively correlated with seeds dry weight. β -amylase activity of soybean increased with seed development and dry matter accumulation, but decreased with seed germination and composition consuming. β -amylase activity also decreased after precocious germination, the correlation between soybean β -amylase activity and germination percentage and index was positive in varieties tolerant to precocious germination, such as Zhechun 3, Ji23 and Ji24, but negative in the susceptible ones, such as 95-1, 9701, Huachun 18 and Aijiaozao. The four varieties susceptible to precocious germination could be grouped into two categories, one included 95-1 and 9701, the other included Hechun 18 and Aijiaozao. Precocious germination of the former and the latter varieties occurred during full seed-filling and beginning maturity, and the germination percentage was higher than 60% and 80%, respectively. After beginning maturity, the β -amylase activity of soybean would decrease in the precocious germinated seeds. The study also suggested that precocious germinated seed caused the decrease of dry weight and germination percentage of harvesting seeds.

Key words: Spring soybean; Seed development; Soybean β -amylase; Precocious germination

大豆种子在成熟后,若较长时间暴露于湿热条件下,会在豆荚上直接发芽,该现象属于广义的胎萌。在南方春大豆区,成熟后期天气高温多雨,而且此时的大豆种胚已完成发育,导致收获前种子在植株上发芽,使其生活力和品质大幅下降,给生产带来损失。种子的发芽力与淀粉酶有一定的关系,这种关系在水稻种子中已有研究。Nandi等^[1]指出,在发芽早期,水稻种子中 β -淀粉酶与发芽力的关系更近,而 α -淀粉酶要到发芽后阶段才开始活动,因此认为 β -淀粉酶与种子的萌动有关。Ackerson^[2]和常从云等^[3]对大豆的发芽特性做了研究,

得到了连荚、鲜剥风干以及后熟5 d后风干的种子发芽率。但是,目前对大豆 β -淀粉酶和影响大豆胎萌的生理生化研究鲜有报道,因此,现重点探讨春大豆种子形成过程中 β -淀粉酶的作用及与胎萌的关系,旨在为农业生产提供生活力高、食用品质好的春大豆品种。

1 材料与方法

1.1 试验设计

供试大豆选用易胎萌品种华春18、95-1、9701、

收稿日期:2013-02-17

基金项目:浙江省重大科技专项(2012C12902)。

第一作者简介:高会(1985-),女,硕士,主要从事大豆栽培生理研究。E-mail:gaohui6088@163.com。

通讯作者:汪自强(1957-),男,博士,教授,主要从事大豆育种和栽培生理研究。E-mail:nxx.cab@zju.edu.cn。

矮脚早和不易胎萌品种浙春 3 号、吉 23 和吉 24,均由浙江大学农学系大豆课题组提供。为使不同生育期品种花后的种子发育处于相似的田间条件,分别于 2009 年 3 月 19 日与 3 月 30 日播种,每期分 7 个小区随机排列,小区面积 $1.67 \text{ m} \times 5 \text{ m}$ 。进入盛花期后,选择植株第三、四、五节,每节只保留一朵花,将当天所开花朵按日期作标记挂牌,连续挂牌 15 d。从开花后天数(DAF)第 20 天开始,每隔 5 d 取标记的花所结豆荚为试验材料,同时记录盛花至收获期间的气象条件。试验根据 Fehr 等^[5]的方法划分大豆种子生殖生长期。

1.2 测定项目与方法

按国际种子检验规程(ISTA)进行发芽试验,统计发芽率(GP)及新鲜种子含水量;根据顾增辉等^[6]的方法计算发芽指数(GI)。可溶性糖的提取和测定参照 Fairbairn 和黄学林等的方法^[7-8]。 β -淀粉酶活性的测定参照李合生等^[9]的方法,酶活性以单位时间(5 min)内单位鲜重(g)中麦糖含量(mg)变化来表示。过氧化物酶活性的测定参照 Gove 等^[10]的方法,利用分光光度计检测出吸光度的变化,进而衡量过氧化物酶活性。

1.3 数据分析

采用 SPSS v. 13.0 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 发育种子的发芽率和发芽指数及可溶性糖的变化

选择了易胎萌品种华春 18、9701 和不易胎萌品种浙春 3 号、吉 24 进行发芽率、发芽指数和可溶性糖含量测定。结果表明,随着种子的发育成熟,发芽率和发芽指数逐渐增加。浙春 3 号、吉 24 花后 20~25 d 未见发芽,25 d 后急剧上升,40 d 后发芽率趋稳,接近 100%;9701、华春 18 花后 20~25 d 发芽率上升较快,25 d 时发芽率达 50% 以上,25~40 d 继续上升,50 d 以后基本稳定。花后 20~40 d 时,华

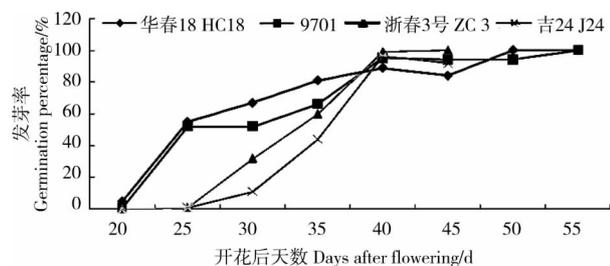


图 1 不同春大豆品种种子发育期间发芽率变化

Fig. 1 Germination percentage of different spring soybean varieties during seed development

春 18、9701 的发芽率高于浙春 3 号、吉 24,但后者却较早接近 100% 的发芽率水平,这表明了不同品种大豆种子发育程度的差异,导致了种子发芽率的变化。

发芽指数变化基本呈“S”形,在花后 20~25 d 期间变化幅度较小。花后 20~35 d,华春 18、9701 的发芽指数大于浙春 3 号、吉 24,说明此期间,前二者发芽速度大于后二者。各品种达到最高状态时间也有早迟,这与品种本身特性有关。

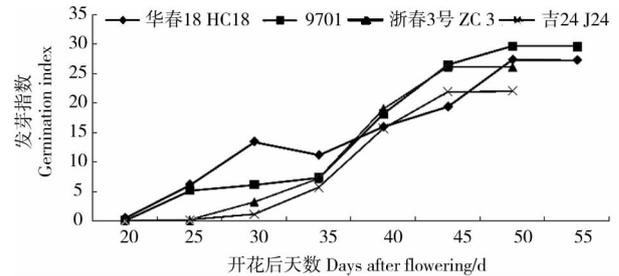


图 2 不同春大豆品种种子发育期间发芽指数变化

Fig. 2 Germination index of different spring soybean varieties during seed development

可溶性糖的变化能反映种子的代谢状况。9701 花后 25 d 时,可溶性糖含量基本稳定,为 4 个品种中的最低(图 3)。华春 18 和浙春 3 号都出现间隔 10 d 的两个峰值,且前者的两个峰值分别比后者早 10 d 左右。花后 25 d 时,华春 18 出现第一个峰值,而浙春 3 号此时出现第一个低谷。浙春 3 号的第一个峰值与华春 18 的第二个峰值重叠在花后 35 d 左右。吉 24 花后 30~35 d 出现低谷,在 40~45 d 达到峰值。表明 4 个春大豆品种间可溶性糖含量的变化差异较大,总体上揭示出易胎萌品种糖分的变化较为平缓。

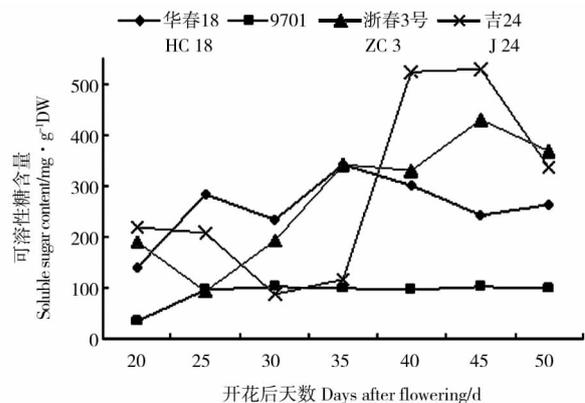


图 3 不同春大豆品种种子发育期间可溶性糖变化

Fig. 3 Soluble sugar content of different spring soybean varieties during seed development

2.2 种子发育期间过氧化物酶的变化

过氧化物酶的活性都有 1 个峰值(图 4),花后 20 d 开始上升,达峰值后下降,在种子成熟时活性最

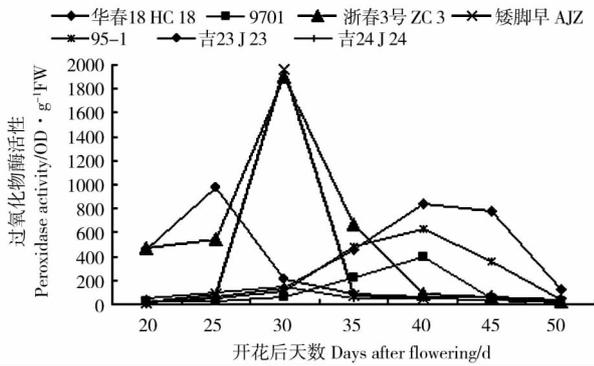


图4 不同春大豆种子发育期间过氧化物酶活性的变化

Fig. 4 Peroxidase activity of different spring soybean varieties during seed development

表1 发芽率、发芽指数与各生理生化参数的相关性

Table 1 Correlation of seed germination percentage and index with physiological and biochemical parameters

| 品种 Variety | 可溶性糖含量 Soluble sugar content | 过氧化物酶活性 POD activity | β -淀粉酶活性 β -amylase activity | 水分含量 Water content | 干重 Dry weight | |
|---------------|---------------------------------|-------------------------|---|-----------------------|------------------|----------|
| 9701 | GP | 0.802 ** | 0.352 | -0.615 * | -0.640 * | 0.932 ** |
| | GI | 0.527 | 0.032 | -0.325 | -0.797 ** | 0.865 ** |
| 华春18 HC18 | GP | 0.705 ** | 0.571 * | -0.259 | -0.846 ** | 0.906 ** |
| | GI | 0.384 | 0.451 | -0.230 | -0.994 ** | 0.939 ** |
| 浙春3号 ZC3 | GP | 0.899 ** | -0.429 | 0.874 ** | -0.725 ** | 0.979 ** |
| | GI | 0.851 ** | -0.625 * | 0.976 ** | -0.788 ** | 0.936 ** |
| 吉24 J24 | GP | 0.789 ** | -0.625 * | 0.641 * | -0.713 ** | 0.953 ** |
| | GI | 0.802 ** | -0.651 * | 0.460 | -0.784 ** | 0.931 ** |

2.4 种子发育期间 β -淀粉酶的变化

种子发育期间的 β -淀粉酶变化见图5。4个易胎萌品种华春18、95-1、9701和矮脚早在整个发育期间变幅较小,在花后45 d 4个品种的 β -淀粉酶活性基本上达到最大值,之后呈下降趋势。不易胎萌

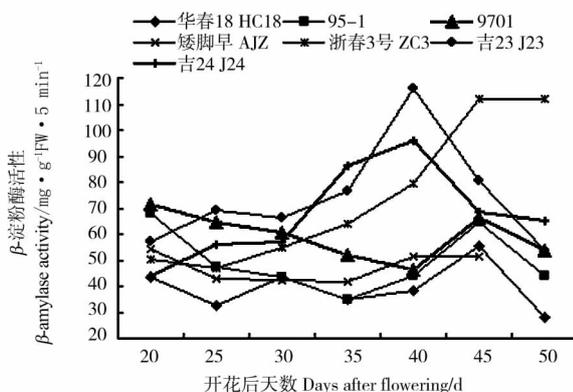


图5 春大豆种子发育期间 β -淀粉酶活性的变化

Fig. 5 Bata-amylase activity of different spring soybean varieties during seed development

低。浙春3号、矮脚早、吉24的峰值约在花后30 d,吉23约在花后25 d,9701、95-1和华春18在花后40 d左右。其中浙春3号和矮脚早的活性最高,吉24最低。

2.3 与发芽有关的生理生化基础

各品种的发芽率(GP)和发芽指数(GI)与可溶性糖、种子干重都呈显著正相关,与种子含水量呈显著负相关(表1),表明GP、GI随种子发育的成熟而提高;二者与过氧化物酶及 β -淀粉酶的关系依品种而异,易胎萌品种9701和华春18的GP、GI与过氧化物酶和淀粉酶分别呈正相关和负相关,而不易胎萌品种浙春3号和吉24则相反。

品种中浙春3号的变化大致呈“S”形,花后20~30 d变幅较小,30~45 d间急剧上升,45 d后稳定;吉23和吉24在花后40 d达到最大值,40 d之后急剧下降。花后20~30 d,易胎萌品种和不易胎萌品种 β -淀粉酶活性差异不大;花后30 d,4个易胎萌品种 β -淀粉酶活性都呈下降趋势,而不易胎萌品种都急剧上升;花后30 d之后发现易胎萌品种 β -淀粉酶活性总是低于不易胎萌品种。

2.5 β -淀粉酶与种子发育的关系

含水量与干物质重是衡量种子发育程度的重要指标,因此 β -淀粉酶与二者的关系可一定程度上反映其对种子发育的作用。 β -淀粉酶活性与9701、华春18、95-1及矮脚早的干重呈负相关,而与浙春3号、吉24和吉23呈正相关(表2)。9701、华春18、95-1和矮脚早在种子发育后期有不同程度的胎萌,而浙春3号、吉24和吉23未见胎萌现象。因此,淀粉酶活性与上述4品种干物质积累呈负相关,可归因于发育后期的种子萌动。

表 2 β -淀粉酶活性与种子活力参数之间的相关系数Table 2 Co-efficiency between β -amylase activity and parameters of seeds viability

| 品种 Variety | 可溶性糖含量 Soluble sugar content | 发芽率 GP | 发芽指数 GI | 过氧化物酶活性 POD activity | 水分含量 Water content | 干重 Dry weight |
|---------------|---------------------------------|-----------|------------|-------------------------|-----------------------|------------------|
| 9701 | -0.539* | -0.615* | -0.325 | -0.750** | 0.456 | -0.613* |
| 华春 18 HC18 | -0.435 | -0.259 | -0.230 | 0.380 | 0.224 | -0.022 |
| 95-1 | 0.195 | -0.306 | -0.016 | -0.288 | 0.302 | -0.506 |
| 矮脚早 AJZ | -0.153 | -0.608 | -0.210 | -0.436 | -0.117 | -0.438 |
| 浙春 3 号 ZC3 | 0.840** | 0.887** | 0.976** | -0.595 | -0.836** | 0.892** |
| 吉 23 J23 | 0.717** | 0.411 | 0.342 | -0.254 | 0.052 | 0.423 |
| 吉 24 J24 | 0.389 | 0.641* | 0.460 | -0.223 | -0.161 | 0.644* |

2.6 β -淀粉酶与种子发芽力的关系

除华春 18 外, β -淀粉酶与过氧化物酶活性都呈负相关, 但仅 9701 表现为极显著(表 2)。 β -淀粉酶与 GP、GI 的相关性分为两方面。一方面与 9701、华春 18、95-1 和矮脚早都呈负相关, 且与 9701 的 GP 显著负相关; 另一方面与浙春 3 号、吉 23 和吉 24 呈正相关, 且与浙春 3 号极显著正相关。不同春大豆中, β -淀粉酶与可溶性糖的相关性也存在差异。与 9701、华春 18 和矮脚早呈负相关; 而与 95-1、浙春 3 号、吉 23 和吉 24 呈正相关, 其中与 95-1 相关系数较小, 而与浙春 3 号、吉 23 达到极显著水平。这表明易胎萌与不易胎萌两类春大豆间, β -淀粉酶与种子活力参数的相关性差异较大; 在不同胎萌程度的各品种间具有过渡性。

2.7 种子胎萌发生的规律

2.7.1 种子胎萌发生的时期及胎萌率的变化

胎萌发生时期因品种而异。95-1、9701 分别在花后 30 和 35 d 开始, 发芽率都为 60%~70%, 花后 30~35 d 水分仍在增加, 说明此时种子刚处于满粒期, 未成熟期间可发生胎萌; 而矮脚早、华春 18 花后约 35 和 38 d 胎萌, 且发芽率已达 80%~90%, 此时含水量和鲜重下降, 干重也趋于稳定, 是在种子成熟后发生胎萌的。分析表明, 从发生胎萌到种子基本成熟(50DAF) 期间, 胎萌率有随时间的增加而增加的趋势。华春 18、95-1、9701 和矮脚早的胎萌率与花后天数均呈极显著正相关 ($r = 0.9362^{**}$, 0.9795^{**} , 0.9766^{**} , 0.9945^{**})。

2.7.2 胎萌对可溶性糖的影响

试验中, 胎萌种子的可溶性糖含量均比正常种子小, 说明胎萌消耗种子的贮藏物质, 使可溶性糖含量下降。在大豆种子成熟过程中, 寡糖在子叶中合成; 种子吸胀过程中, 在酶的催化下, 寡糖被分解。

2.7.3 胎萌种子中大豆 β -淀粉酶的含量变化

种子发生胎萌后 β -淀粉酶活性下降, 不同品种和不同的种子发育阶段, 下降程度不同。与未发生胎萌的正常种子相比, 华春 18 花后 48 和 52 d 时 β -淀粉酶活性分别下降 26% 和 38% 左右; 95-1 花后 42 和 50 d 时下降幅度相近, 约为 50%; 9701 和矮脚早分别在花后 42 和 35 d 生理成熟, 淀粉酶活性下降 48% 左右。

2.7.4 胎萌对种子发芽率和干物质重的影响

试验表明, 胎萌对不同品种发芽率下降的影响程度不一。在 4 个易胎萌品种中, 95-1 胎萌种子的发芽率最低, 其正常和整株混收种子的发芽率也低于其他品种。矮脚早的胎萌种子发芽率最高, 其正常和混收种子发芽率却比其他品种高, 说明胎萌对矮脚早的发芽率影响较小。

试验发现, 华春 18、9701 和 95-1 的胎萌种子百粒干物质重分别较其正常种子低 13.28%、11.58% 和 9.86%。由于大豆种子的百粒重是产量构成的一个重要因子, 因此胎萌会降低种子产量和品质。

3 讨 论

3.1 种子发育时期与种子发芽力

Kermode 等将种胚的发育分为 3 个时期, 首先是组织分化期, 受精卵分化成幼胚; 随后是成熟期, 细胞扩大、贮藏物质积累; 最后是脱水期(或成熟干燥期), 此时种子代谢下降并进入休止状态^[12]。许多作物如小麦、玉米、菜豆、油菜、水稻等种子发育后期都存在明显的脱水期, 本试验供试大豆成熟期和发育阶段不同, 但在种子发育后期都有明显的脱水过程。

各品种在种子形成完成期发芽率都高于 50%, 成熟期发芽率可达 90% 左右。淀粉酶活性从始粒至始熟期都为最高水平, 从其作为一种贮藏物质的

角度看,此阶段种子的贮藏物质已积累完成;同时,水分“转折点”也基本出现于此期,含水量和鲜重都呈先升后降的过程。据 Kermode 等^[13]报道,当种子发育到生育后期,成熟前的干燥或部分干燥均能促进发育种子发芽,使种子从发育状态转到发芽及生长状态。本试验也表明,各品种在始熟期后发芽率都高于 90%,其中浙春 3 号已接近 100%。

3.2 大豆种子发育过程中 β -淀粉酶的特性

大豆种子几乎不含 α -淀粉酶,但 β -淀粉酶含量很高。胎萌后, β -淀粉酶活性都下降,与浙春 3 号、吉 23、吉 24 的发芽率和发芽指数呈正相关,而与 9701、95-1、华春 18 和矮脚早等呈负相关。Nandi 认为 α -淀粉酶与幼苗的生长有关,而 β -淀粉酶却与种子的萌动有关^[1]。在对大麦的研究中,Syankwilimba 等^[14]指出,广义与狭义胎萌的区别:前者种子在收获干燥后其发芽能力往往已丧失,而后者胎萌的种子在收获干燥后仍具有一定的发芽能力。本试验发现大豆发生胎萌的时期虽都发生在种子始熟期前后,属于广义胎萌现象,但是种子在胚根突破种皮但尚未伸出种皮时仍具有发芽力,与 Syankwilimba 提出的狭义胎萌相似。因此,在一些品种的发育后期淀粉酶活性的下降,可能与这些品种在种子成熟期发生萌动有关。

3.3 种子胎萌的发生及其生理因素

发生胎萌的 4 个品种,无论胎萌发生在尚未脱水的满粒期或已开始脱水的始熟期,新鲜种子的发芽率已达 60% 或 80% 以上。发育期间具有发芽能力是种子发生胎萌的前提。

据 Styer 等^[15]离体培养玉米胚的研究,蔗糖可促进胚的萌发及改善胚的生长状况,并认为在种子萌发过程中必需有一定量可溶性糖供应胚。易穗发芽的水稻品种,在籽粒发育过程中,其内部长时期维持较高浓度的可溶性糖^[16]。本试验结果表明,供试品种虽然存在易胎萌和不易胎萌的差别,但可溶性糖含量却无如上所述的规律,可能是由于大豆的胎萌机理与禾谷类作物不同。

张海峰等^[17]发现,低 α -淀粉酶活性是小麦抗穗发芽性的主要机理之一^[18]。大豆中淀粉含量及 α -淀粉酶活性很低,但 β -淀粉酶活性与禾谷类作物相仿,且在种子内的作用有一定的规律。如不易胎萌种子发育过程中尤其是满粒至始熟期, β -淀粉酶最高活性比易胎萌种子高;胎萌后则活性下降。这些结果虽不能证明 β -淀粉酶具有谷类中 α -淀粉酶的

功能,但至少说明其作为一种贮藏蛋白,参与萌发和发育过程中的合成和分解。研究也表明,始熟期后,不易胎萌品种的过氧化物酶活性比易胎萌品种低,因为该酶是萌发初期的关键性酶,故胎萌与此时较高的过氧化物酶活性有关。值得一提的是,大豆品种矮脚早的胎萌发生在成熟期(35DAF),此时过氧化物酶活性却很低,这可能是种子已脱水成熟而在多雨的情况下发生萌发,为熟后未及时收获引起的在植株上发芽,不属于典型的胎萌现象。

3.4 胎萌对种子质量的影响

胎萌和穗发芽均会降低种子食用和贮藏品质。沈正兴等^[18]报道,小麦穗发芽因 α -淀粉酶活性上升,促使淀粉降解籽粒品质而劣化;蛋白酶的水解活动使蛋白质降解为麦谷朊和氨基酸,导致筋力下降。张瑞茂等^[19]研究发现,甘蓝型杂交油菜胎萌种子的发芽比正常种子有不同程度下降。本试验结果表明,将大豆 β -淀粉酶视为一种贮藏蛋白时,胎萌使种子内贮藏蛋白大幅下降,从而降低了种子干物质和产量,也使食用品质降低;同时,经过胎萌后的大豆种子其发芽率也大幅下降。

参考文献

- [1] Nandi S, Das G, Senmandi S. β -amylase activity as an index for germination potential in rice [J]. *Annals of Botany*, 1995, 75: 463-467.
- [2] Ackerson R C. Abscisic acid and precocious germination in soybean [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1984, 35: 414-421.
- [3] 常从云, 韩天富. 鼓粒期大豆种子的发芽力 [J]. *作物杂志*, 2000(5): 6-8. (Chang C Y, Han T F. Germinating capacity of soybean seeds during seed filling period [J]. *Crops*, 2000(5): 6-8.)
- [4] Modi A T, McDonald M B, Streeter J G. Soluble carbohydrates in soybean seeds during development and imbibition [J]. *Seed Science and Technology*, 2000, 28: 115-127.
- [5] Fehr W R, Caviness C E. Stages of soybean development [M]. Iowa: Iowa State University, 1977: 28-350.
- [6] 顾增辉, 徐本美, 郑光华. 测定种子活力方法之探讨 (II) 发芽的生理测定法 [J]. *种子*, 1982(3): 11-17. (Gu Z H, Xu B M, Zheng G H. The study about the methods of measuring the activity of seeds (II) the methods of the physiological measurement on germinating [J]. *Seeds*, 1982(3): 11-17.)
- [7] Fairbairn N J. A modified anthrone reagent [M]. *Chemistry and Industry*, 1953, 4: 86.
- [8] 黄学林, 陈润政. 种子生理实验手册 [M]. 北京: 农业出版社, 1990: 16-43. (Huang X L, Chen R Z. *Physiological experiments of seeds* [M]. Beijing: Agricultural Press, 1990: 16-43.)