

温度对大豆 (*Glycine max*) 种子发育过程中 蛋白质、脂肪和淀粉积累过程的影响

周瑞莲¹, 王仲礼¹, 侯月利¹, Westgate. E. Mark²

(1. 鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025; 2. Iowa State University, Agronomy Dept. Ames, IA, 51000, USA)

摘要:目前人们仍不清楚温度是如何影响发育中的大豆 (*Glycine max* L.) 种子蛋白质和脂肪积累过程以及基因型不同的大豆是否对温度具有相同的反应。研究拟通过对 3 个基因型大豆在不同温度处理下, 种子发育过程中的蛋白质和脂肪的积累模式研究, 以了解温度对种子组分的调节机理。3 个基因型大豆品种 (Evans, PI132. 217, 和 Proto) 种子盆栽在温度为 27/20℃ (中温) 的生长箱中生长到开花。在开花后第 10 天, 将其中的一个生长箱的温度调节到 35/27℃ (高温); 另一个调到 20/12℃ (低温)。生长在高温和中温条件下的大豆, 在开花的第 21 天开始收集豆荚, 每 3d 取 1 次样。生长在低温条件下的大豆, 在开花的第 25 天开始收集豆荚, 每 5d 取 1 次样。结果表明, 3 个基因型大豆种子均在高温下生长快, 成熟早, 在中温下生长速率最大, 低温下生长速率低但种子生长期延长。当种子获得 60% ~ 70% 总干重时种子脂肪含量达到最大 (中温), 高温使其提前出现, 低温则被推后。在低温下, 种子中蛋白质和脂肪两者积累模式相同, 但蛋白质积累速率低。在高温和中温条件下, 种子蛋白质和脂肪的积累模式不同。在种子获得 60% ~ 70% 的总干重之前, 蛋白质和脂肪积累模式相同, 但在种子获得 60% ~ 70% 的总干重之后, 蛋白质积累呈上升趋势, 而脂肪积累停止或下降。同时在种子发育的晚期伴随着蛋白质含量增加, 淀粉和蔗糖含量快速下降。虽然 3 个基因型大豆种子的蛋白质和脂肪积累模式均明显受温度影响, 但在不同温度条件下和不同生长阶段中高蛋白质品种 Proto 和 PI132. 217 (蛋白质稳定型) 蛋白质含量总是高于低蛋白质品种 Evans, 而且两者差异显著。这一研究表明温度不能改变品种在蛋白质和脂肪合成上的遗传特性。遗传育种在提高大豆种子蛋白质含量上仍起决定作用, 但是合理的播种时期在提高大豆种子蛋白质和脂肪含量上也是不可忽视的问题。

关键词:大豆基因型; 温度处理; 蛋白质和脂肪积累模式; 种子发育

文章编号: 1000-0933(2008)10-4635-10 中图分类号: Q142, Q948, S314 文献标识码: A

The effect of growth temperature on the accumulation pattern of protein, oil and starch of soybean seed in seed filling

ZHOU Rui-Lian¹, WANG Zhong-Li¹, HOU Yue-Li¹, Westgate. E. Mark²

1 School of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China

2 Iowa State University, Agronomy Dept. Ames, IA, 51000, USA

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(10): 4635 ~ 4644.

Abstract: The effect of growth temperature on final protein and oil content of soybean (*Glycine max* L.) in seed fill has been studied. But it is unclear that how accumulation process of seed composition is in response to the temperature or whether different genotypes of soybean with high seed protein have similar responses to temperature in seed fill. The objective of this study was to investigate the developmental pattern of seed protein and oil accumulation under different temperature to know how the temperature affects the process of seed composition development. Three genotypes varying in

基金项目: 美国依阿华州大豆研究协会资助项目

收稿日期: 2007-05-26; **修订日期:** 2007-10-10

作者简介: 周瑞莲 (1958 ~), 女, 河南济源市, 博士生, 教授, 主要从事植物逆境生理生态学研究. E-mail: zhourl@hotmail.com

Foundation item: The project was financially supported by Iowa Soybean Board of America

Received date: 2007-05-26; **Accepted date:** 2007-10-10

Biography: ZHOU Rui-Lian, Ph. D. candidate, Professor, mainly engaged in plant stress ecophysiology. E-mail: zhourl@hotmail.com

final seed protein and oil content (Evans, PI 132.217, and Proto) were grown under optimal conditions (27/20°C, MT) in a growth chamber until 10 days after flowering (DAF) when pods at mid-stem nodes were fully expanded. Temperature in three growth chambers was then adjusted to one of three day/night temperature regimes: high temperature, 35/27°C (HT); moderate temperature, 27/20°C (MT), or low temperature, 20/12°C (LT) and maintained until the seeds reached physiological maturity. Pods were collected every 3 days starting at 21 DAF at HT and MT, every 5 days starting at 25 DAF at LT to monitor changes in seed mass and composition. Seeds grown at HT matured sooner for all lines. At MT seed obtained greatest seed growth rate for all lines. At LT, seed growth rate was lower, and duration of growth became longer. Greatest oil concentration (%) was obtained at seeds reaching 60%–70% of final seed DW, then stabilized or decreased slightly as the seeds matured. The time for greatest oil concentration was advanced at HT, and delayed at LT. There was the same pattern of oil and protein accumulation on seed fill at LT. At HT and MT, oil and protein concentrations followed a similar pattern until 60% of final seed DW was reached and then the oil concentration stabilized or slightly decreased, protein concentration increased until mature. Higher temperature increased the rate of protein accumulation, particularly in the later stages of development, which was related to a rapid decrease in starch concentration. The developmental pattern of protein accumulation in three genetic lines was impacted by temperature. But the percentage of protein in higher protein lines of Proto (higher protein line) and PI132.217 (stable protein line) always was higher than that in low protein line of Evans. It suggested that character of genetic difference in accumulating protein in high protein line would be not altered by temperature. This study showed that genetic breeding plays a key role in increasing the seed with higher protein and higher oil. But it is also important in obtaining seed higher protein and oil concentration by choosing suitable planting dates.

Key Words: soybean genotypes; temperature treatment; protein and oil accumulation pattern; seed development

大豆种子成分决定着大豆生产者的收入,而且越来越影响着大豆种子的市场价格^[1]。培育高蛋白和高脂肪含量的大豆品种是育种学家的长期任务^[2]。然而,由于提高大豆蛋白质含量往往会降低大豆种子产量,为此培育高蛋白和高产品系的大豆是十分困难的^[3,4]。一些研究发现,不同基因型大豆品种的蛋白质和脂肪含量是不同的,而这种差异往往还受遗传和环境因子的影响^[5]。

温度可直接或间接地影响植物生长、发育以及最终产量。一些研究表明,温度从 18/12°C (昼/夜) 提高到 26/20°C,大豆种子产量增加,当温度超过 26/20°C 大豆种子产量下降^[6~8]。研究还发现,晚间温度从 10°C 提高到 24°C,大豆植株上的种子数量没有变化,但是每个种子的重量却增加了^[9]。在生长箱控制温度条件下的研究发现^[10,11],在种子开花和结荚期将日温从 30°C 提高到 35°C 明显降低每株大豆种子产量。

许多研究发现种子发育期的生长温度影响成熟大豆种子中的蛋白质和脂肪含量^[5,12~14]。Piper 对分布于美国不同地区的 20 个大豆品种的研究结果表明,在温度达 28°C 时种子脂肪含量最高^[5],当温度进一步提高则脂肪含量下降。而蛋白质含量却在温度超过 28°C 后随着温度的提高而持续增加^[10,11,15]。这些研究提供了有关成熟种子产量与温度的关系以及成熟种子蛋白质和脂肪含量和生长期温度的关系。但是,迄今为止,人们仍不了解温度是如何影响种子蛋白质和脂肪积累过程的,以及是否不同基因型品种的蛋白质和脂肪积累过程对温度有相同的反应。由于成熟种子的蛋白质含量取决于在种子发育过程中种子中 N 的积累。因此对生长在不同温度条件下大豆种子蛋白质和脂肪积累过程的了解将有助于搞清楚环境因子和遗传基因在大豆种子蛋白质和脂肪积累中的作用。

本研究采用 3 个不同基因型大豆品种,将他们种植在不同的温度条件下,在大豆生长发育过程中测定种子组分以了解温度和基因型对种子组分的影响。

1 材料和方法

1.1 植物培养

用在本实验中的 3 个大豆基因型品种分别是:PI132.217 (蛋白质稳定型)、Evans (低蛋白质高脂肪)、

Proto (高蛋白质低脂肪)。将它们种植在含有人工土壤(sphagnum moss, vermiculite, limestone, and ferrous sulfate)的桶里(20L)。桶放在生长箱中,其中每个生长箱含 15 桶,每个品种种 5 桶,每桶种两株。3 个生长箱的昼夜温度均设定为 27℃/20℃, 14h 光照,光强度为 650 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。每星期施肥 1 次,施肥量为 0.4g/桶的 Peters 专业肥料(W. R. Grace & Co., Fogelsville, PA),每天浇 1L 水。

温度处理 在美国中西部大豆生长的最适温度为 27℃/20℃,为此大豆幼苗生长在该温度下直到开花。待大豆植株开花后 10d (这时豆荚已经完全展开时),将其中的两个生长箱,一个的温度调到高温,即 35℃/27℃ (HT);另一个调到低温,即 20℃/12℃ (LT),温度没有调节的为中温处理,即 27℃/20℃。在这种温度条件下种子生长到成熟。

1.2 收集豆荚

由于大豆是无限花序,为了确保所取的大豆种子处在同一个发育期,在植株生长的早期去除侧枝,仅在主枝的第 4 到 6 个节上采集豆荚。首先在第 4 到 6 个节上标记第 1 个开的花。然后在开花后的 18d,在这些节上将相同大小的豆荚作标记。在种子发育过程中不同时期采集的实验用种子仅从标记的豆荚中随机收集。在种子发育过程中取样 4 次,第 5 次是成熟种子。

1.3 收集种子

通过对定期收取的种子干重、种子组分的分析以了解温度对种子生长速率和蛋白质和脂肪积累速率的影响。由于不同温度条件下大豆种子生长速率不同,为了确保不同温度条件下所采收的大豆种子处在相同的发育期。对生长在不同温度条件下的种子采用不同时间采收。Proto 和 Evans,在高温下种子开始收集的时间是开花后的 23d,在中温和低温下是在开花后 25d,对于 PI123.217,在高温下种子开始收集的时间是开花后的 21d,在中温和低温下是在开花后 23d。对于高温和中温处理,种子是每 3d 取一次样,低温每 5d 取一次样,每次取样设 3 个重复。其中部分样品立刻做鲜重(FW),干重(DW)分析外,其余的种子立刻用液氮保存,然后用冻干机将其冻干。冻干样品用于蛋白质,脂肪,淀粉和糖分分析。

1.4 脂肪、蛋白质、淀粉和糖分的测定

取 100 mg 冻干的大豆样品用乙烷抽提法测定脂肪含量。用 TCA(120 g kg⁻¹)将脱脂样品中蛋白质 N 和非蛋白质 N 分开,然后用微量凯氏定氮法测定含 N 量。取 25mg 脱脂样品用酶解法分析葡萄糖含量^[16],乘以 0.9 为淀粉含量。

在许多研究中人们习惯用开花后天数表示种子发育阶段^[17,18]和用豆荚和种子大小确定种子发育期^[1,19]。由于晚熟种子的发育要比早熟种子发育的要慢^[20],所以开花后天数不适用于基因型间的比较。为了减小温度引起种子发育期的不同和基因型间种子发育期的不同带来的差异,本研究采用种子干重(DW)占成熟种子干重(DW)百分比来表示种子的发育阶段。

1.5 统计分析

整个实验包含 3 个温度处理,3 个基因型和样品的 3 个重复。样品的统计分析用 SAS 软件(SAS Institute)^[21]。误差分析用 SAS 的 GLM 系统(SAS Inst. Inc., Cary, NC)^[21],在没有交互干扰下,分析模式可表示为:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + G_j + \varepsilon_{ijk}$$

式中, y 表示测定特性, μ 表示特性的总平均值, T_i 表示温度, G_j 表示基因型, ε_{ijk} 表示剩余值,整个实验重复 2 次,2 次的实验结果完全相同,这里仅报道第 1 次的结果。

2 结果

2.1 温度对成熟种子 DW 和组分的影响

3 个基因型品种在中温(27/20℃),成熟种子的 DW 最大,温度从 27/20℃ 提高到 35/27℃,3 个基因型品种平均种子 DW 下降 90 ~ 100mg·g⁻¹,温度从 27/20℃ 下降到 20/12℃,PI132.217 种子 DW 下降 170 mg·g⁻¹; Evans 下降 10mg·g⁻¹,Proto 下降 70mg·g⁻¹。3 个基因型品种成熟种子的 DW 明显受温度的影响

($P < 0.001$) (表 1)。

成熟种子中蛋白质含量也明显受温度的影响 ($P < 0.05$) (表 1)。3 个基因型大豆种子蛋白质含量均在高温 (35/27℃) 时最高。当温度从中温 (27/20℃) 提高到高温 (35/27℃), Evans 种子蛋白质含量增加了 $6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, Proto 增加了 $22.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在不同温度处理中 PI132.217 的种子蛋白质含量没有变化 (表 1)。

成熟种子中脂肪含量的测定结果表明, 3 个基因型大豆品种的脂肪含量均在中温 (27/20℃) 时最高 (表 1)。温度从 27/20℃ 提高到 35/27℃ 对成熟种子脂肪含量有非常轻微的影响。温度从 27/20℃ 降低到 20/12℃, Evans 脂肪含量下降 $42 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, Proto 下降 $30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, PI 132.217 下降 $22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。Evans 和 Proto 成熟种子脂肪含量明显受低温的影响 ($P < 0.05$) (表 1)。

2.2 不同温度条件下种子 FW 和 DW 的积累模式

不同温度条件下种子 FW 积累模式表明在开花第 21 或 25d 到开花后的第 30 或 35 天的 9d 中, 高温下生长的种子其 FW 增加速率最大。但是高温下种子的生育期比中温缩短 3d, 比低温缩短了 7d。所以高温下生长的种子成熟早, 例如, 在开花后第 45 天 100% 的豆荚变成棕褐色, 而生长在低温下的种子只

有 40% 变成棕褐色, 叶枝仍然绿色。DW 积累的最大速率是出现在中温处理 (图 1)。当温度从 27/20℃ 提高到 35/27℃ 时和温度从 27/20℃ 下降到 20/12℃ 时, 3 个基因型大豆品种种子的生长速率均下降 (表 2)。在不同温度条件下生长的 3 个基因型大豆品种的 DW 积累模式上没有明显差异。

表 2 种子快速生长期温度对 3 个基因型大豆 DW、蛋白质、脂肪和淀粉积累速率和含量的影响

Table 2 Effect of growth temperature during rapid seed filling on changes in protein, oil, and starch concentration and the rate of protein, oil and dry weight accumulation in three soybean genotypes

组分 Composition	Evans				Proto				PI132.217			
	HT	MT	LT	$P > F$	HT	MT	LT	$P > F$	HT	MT	LT	$P > F$
变化率 change in (%)												
蛋白质 Protein	5.10	4.04	2.57	0.0085	8.14	5.76	2.87	0.0010	5.10	4.36	4.65	0.0007
脂肪 Oil	2.45	4.90	3.28	0.0026	3.52	3.84	2.97	0.0927	2.41	1.99	1.47	0.0379
淀粉 Starch	-1.31	-2.37	-0.79	0.0102	-3.89	-3.40	-1.16	0.0270	-1.50	-1.60	-1.14	0.1600
积累速率 Rate of accumulation ($\text{mg} \cdot \text{seed}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)												
蛋白质 Protein	2.82	3.24	2.33	0.0341	3.15	3.35	3.18	0.5242	2.70	4.14	3.23	0.0059
脂肪 Oil	1.64	2.20	1.40	<.0001	1.57	1.80	1.58	0.1120	1.21	1.80	1.20	0.0002
干重 Dry weight	7.83	8.87	6.82	0.2246	7.11	8.54	8.32	0.2819	7.29	9.81	8.50	0.0004

表中值表示在种子获得成熟种子的 60% ~ 70% 干重后的 9 ~ 10d 内种子 DW 和组分变化情况, 即种子在开花后第 21 天到第 30 天 (HT), 第 23 天到第 32 天 (MT), 25d 到 35d (LT); 黑粗体数字表示不同温度条件下种子组分差异显著 ($P \leq 0.05$, Tucky 检验); 图中 HT 表示高温, MT 示中温, LT 示低温 Values reflect changes in composition from 21 to 30 DAF (day after flower) in the HT treatment, 23 to 32 DAF in the MT treatment, and 25 to 35 DAF in LT treatment; In each case, the three genotypes had achieved 60%—70% of their final seed DW; Within genotypes, temperature treatments significant at $P \leq 0.05$ are indicated in bold; HT: high temperature; MT: moderate temperature; LT: low temperature

表 1 种子快速生长期温度对成熟种子组分的影响

Table 1 Response of seed composition in matured seed to different temperatures during seed fill. Data represent the means of at least three measurements

温度处理 Temperature treatment	Evans	Proto	PI132.217
干重 Dry weight ($\text{mg} \cdot \text{seed}^{-1}$)			
35℃ / 27℃	182.3 a A	201.3 a A	166.8 a B
27℃ / 20℃	202.5 b A	221.5 b B	187.5 b C
20℃ / 12℃	199.6 b A	207.1 c A	156.2 a B
蛋白质百分含量 Percent Protein (%)			
35℃ / 27℃	36.2 a A	41.7 a B	41.6 a B
27℃ / 20℃	35.6 a A	39.4 bc B	40.7 a B
20℃ / 12℃	34.2 b A	38.5 c B	39.9 a C
脂肪百分含量 Percent Oil (%)			
35℃ / 27℃	19.8 a A	17.5 a A	15.2 a A
27℃ / 20℃	21.6 a A	18.9 a B	15.2 a C
20℃ / 12℃	13.5 b A	15.9 b B	13.6 a A

所有测定至少重复 3 次, 表中不同温度条件下大豆种子组分 (干重, 蛋白质和脂肪含量) 的差异性比较用小写字母表示, 小写字母不同表示不同温度条件下大豆组分显著差异 ($P \leq 0.05$, Tucky 检验); 同温度条件下 3 个基因型大豆组分差异性分析用大写字母表示, 大写字母不同表示基因型品种间显著差 ($P \leq 0.05$) For each genotype, values for dry weight, protein, or oil across temperature treatments followed by the same small letter are not different at $P \leq 0.05$; Within temperature treatments, values for each genotype followed by the same capital letters are not different at $P \leq 0.05$

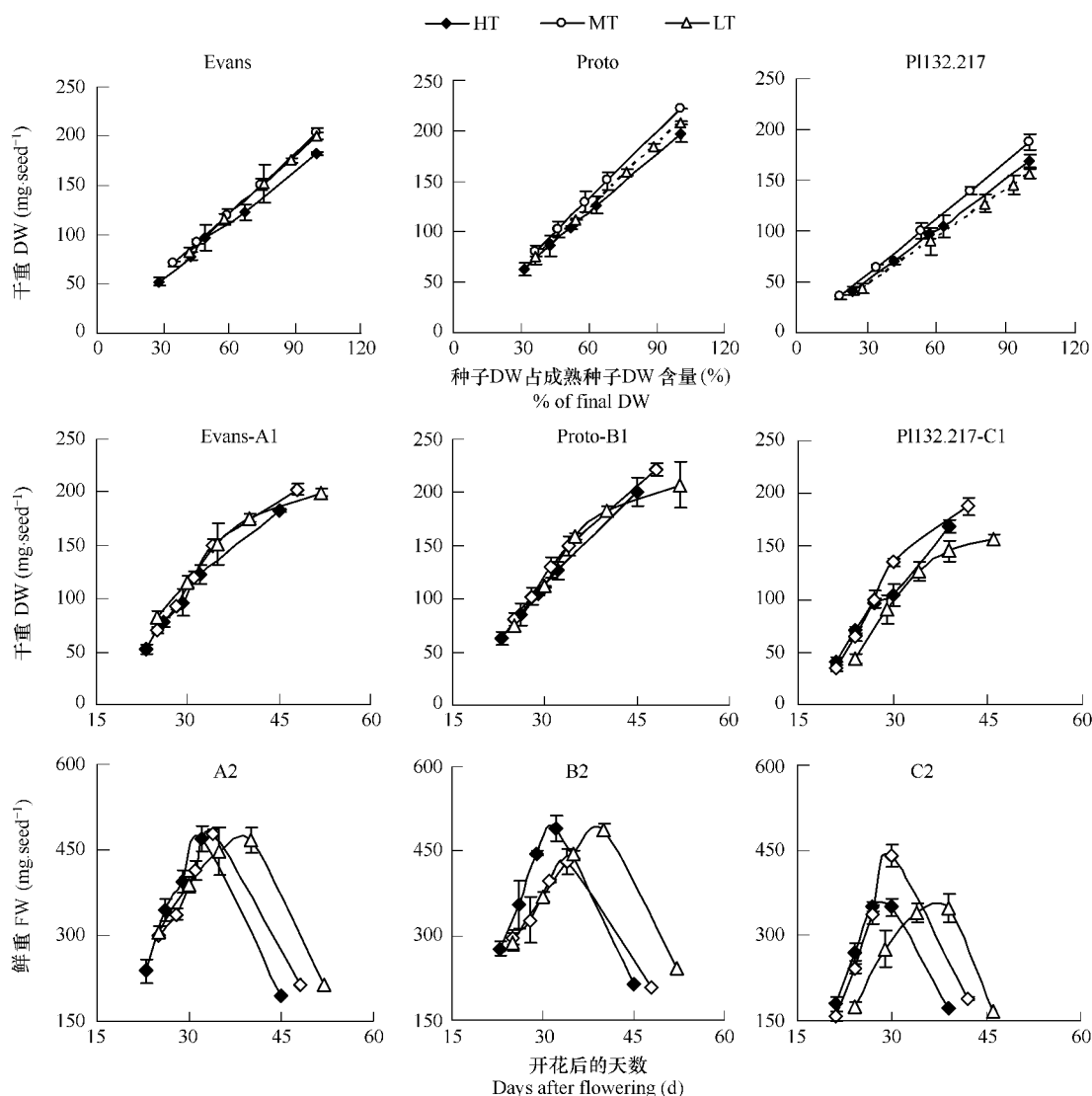


图1 种子快速生长期温度对种子生长速率的影响

Fig. 1 Growth rate response to temperature treatment during seed fill

图中用不同时期各品种种子 DW 占其最终成熟种子 DW 百分比表示种子生育期以消除大豆品种间生育期不同带来的影响;每个测定重复 3 次;图中 HT 表示高温,MT 示中温,LT 示低温 Data are present on a percent of final seed dry weight basis to normalize temporal differences in development among genotypes; Data are mean $\pm$ SE of 3 reps of 5 pods each; HT-high temperature; MT-moderate temperature; LT-low temperature

2.3 不同温度条件下种子脂肪积累模式

种子脂肪积累模式表现为随着种子发育种子中脂肪含量增加,在开花后的第 32 天到 35 天(大约此时种子的 DW 积累量达到成熟种子 DW 的 60%~70%),种子脂肪含量达到最高(图 2)。在此之后,脂肪含量趋于稳定或略有下降。3 个基因型大豆品种在脂肪积累模式上没有差异。但是种子中脂肪积累模式明显受温度影响($P < 0.0001$) (表 3)。高温下(31℃),种子脂肪含量达到最大的时间是在种子获得 65% 总干重,低温下(16℃),是在种子获得 85% 总干重。降低温度明显降低脂肪积累速度,延迟种子脂肪达到最大量的时间。

温度对种子脂肪积累具有明显作用,例如在种子生长最快的 9~10d 里(这时种子干物质积累量达到种子成熟时干重的 60%~70%),在高温、中温和低温处理下,Evans 种子脂肪含量分别提高了 24.5, 49.0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 和 32.9 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; Proto 提高了 35.2, 38.4, 29.7 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (表 2)。对所有品种而言,脂肪积累速率在中温条件下最高(表 2),温度提高或降低均引起种子脂肪积累速率下降。

在不同温度条件下,3 个基因型大豆品种的脂肪积累速率表现出明显的不同(表 2),低蛋白质品种 Evans 在不同温度处理下脂肪积累速率高于 Proto(高蛋白品种)和 PI132.217(蛋白质稳定品种)。因此 Evans 在不同温度处理下,在生长的各阶段种子中脂肪含量始终高于 Proto 和 PI132.217(图 2)。

2.4 不同温度条件下种子蛋白质积累模式

不同温度条件下,3 个基因型大豆蛋白质积累模式表现相同,即随着种子发育种子中蛋白质含量不断增加(图 2)。与脂肪积累模式相比,种子蛋白质含量在成熟时最高,而脂肪却在种子获得总干重的 60% - 70% 时最高。

3 个基因型大豆种子蛋白质积累过程明显受温度影响,种子中蛋白质含量均随温度提高而增加(表 2),种子中蛋白质含量均在高温时最高。例如在种子获得 60% ~ 70% 种子干重以后到成熟这段时间,在高温、中温和低温处理下,Evans 种子中蛋白质净积累分别为 40, 28, 29 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; Proto 分别为 52, 24, 29 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, PI132.217 为 64, 49, 37 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (图 2)。

不同温度条件下,3 个基因型大豆品种种子中蛋白质含量差异明显(表 4)。例如高蛋白品种 PI132.217 和 Proto 在生长的各阶段种子中蛋白质含量,和蛋白质积累速率高于低蛋白质品种 Evans(表 2),并且两者蛋白质含量差异显著($P < 0.05$)(表 4),而 PI132.217 和 Proto 差异不显著。PI132.217 在不同温度条件下其种子蛋白质积累模式相同,种子组分对温度变化不敏感。

2.5 不同温度条件下种子淀粉和蔗糖变化模式

总的来看,在种子生长的前期,种子中淀粉含量较稳定,而在种子快速生长的后期,种子中淀粉含量直线下降(图 3)。值得注意的是淀粉变化模式明显受温度影响,发育过程的高温不仅明显提前下降时间,还加速下降过程。所以低温下,种子中积累的淀粉较多。

种子发育过程中种子内蔗糖含量变化的模式与淀粉的变化模式相同,同样该模式受温度的影响,高温明显加速了在种子发育后期对蔗糖的消耗速度(图 3)。所以,低温下种子中积累的蔗糖较多。

3 讨论

3.1 温度和种子发育的关系

该研究结果表明 3 个基因型大豆品种单个成熟种子的 DW 在中温处理下(24℃, 27/20℃)较高,而在高于或低于这个温度时均下降。该研究结果和早期的一些研究结果一致^[6,22~24]。其中一篇文章报道当温度提高到 26/20℃可使单个种子的 DW 下降,而另一篇文章发现当温度提高到 29/20℃时,单个种子的 DW 下降。以往研究仅关注单个种子获得最大 DW 的最佳温度,而未关注温度是如何影响大豆种子发育过程的。而更多地了解在不同温度下种子的发育过程和种子中各成分的积累模式有利于理解温度对种子最终产量和种子组分作用的生理机理。

表 3 种子快速生长期温度和基因型对种子组分积累影响的 ANOVA 显著性差异分析

Table 3 Results from ANOVA on the development of seed composition (protein concentration, oil concentration and starch concentration) during seed fill, testing effects of temperature and genotype

来源 Source	影响因子 Effect	F	P
干重 DW			
温度 Temperature	高温 HT	0.32	0.7315
	中温 MT	0.16	0.8523
	低温 LT	0.71	0.4967
基因型 Genotype	Evans	2.83	0.0701
	PI132.217	2.29	0.1141
	Proto	1.73	0.1902
蛋白质 Protein			
温度 Temperature	高温 HT	4.72	0.0141
	中温 MT	8.01	0.0011
	低温 LT	9.53	0.0004
基因型 Genotype	Evans	0.44	0.6455
	PI132.217	0.13	0.8753
	Proto	0.85	0.4346
脂肪 Oil			
温度 Temperature	高温 HT	13.49	<0.0001
	中温 MT	19.64	<0.0001
	低温 LT	12.49	<0.0001
基因型 Genotype	Evans	14.39	<0.0001
	PI132.217	23.86	<0.0001
	Proto	5.77	0.0061
淀粉 Starch			
温度 Temperature	高温 HT	1.21	0.3084
	中温 MT	0.46	0.6359
	低温 LT	0.39	0.6776
基因型 Genotype	Evans	1.33	0.2756
	PI132.217	0.18	0.8360
	Proto	1.00	0.3774

黑粗体表示差异显著($P \leq 0.05$)

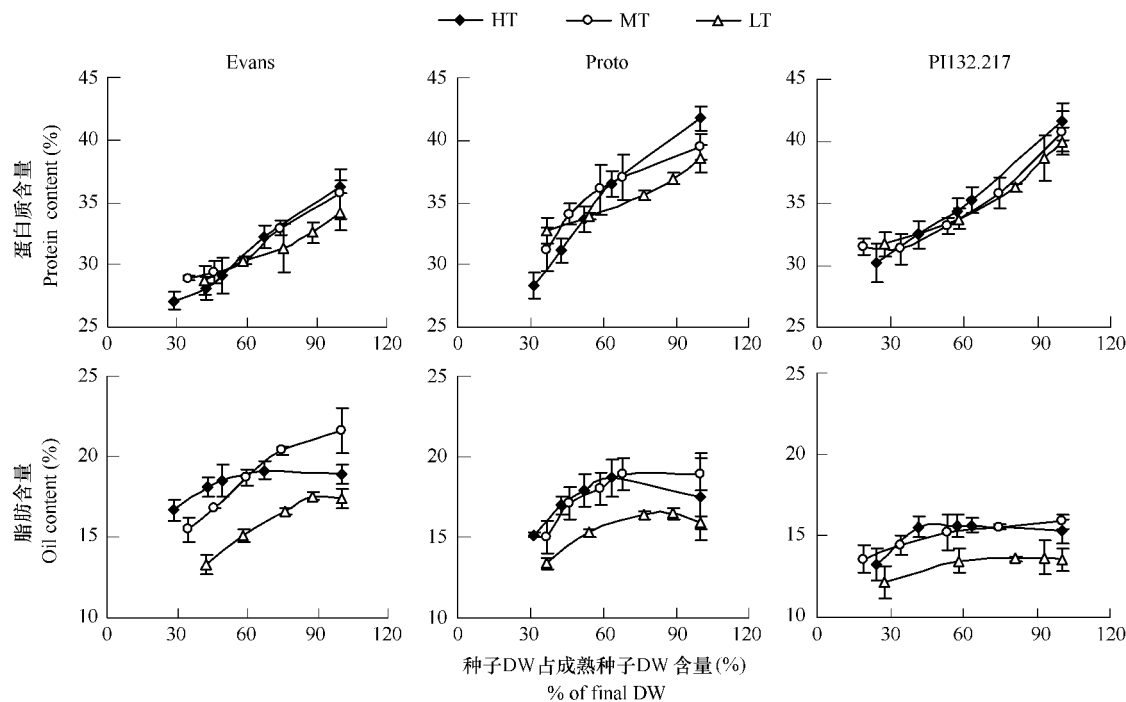


图 2 种子快速生长期温度对种子蛋白质和脂肪含量的影响

Fig. 2 Response of seed protein and oil concentration to temperature during seed fill

种子生育期用不同时期各品种种子干重占其最终成熟种子干重百分比表示以消除大豆品种间生育期不同带来的影响 Data are present on a of final seed fry weight basis to normalize temporal differences in development among genotypes;每个测定重复 3 次 Data are mean $\pm$ SE of 3 reps of 5 pods each; HT:高温 High temperature; MT:中温 Moderate temperature; LT:低温 Low temperature

表 4 种子快速生长期 3 个基因型品种 (Evans, Proto 和 PI132.217) 未成熟种子在干重、蛋白质、脂肪和淀粉含量 *P* 值比较

Table 4 *P* values for comparisons among evans, proto, and PI132.217 for seed dry weight (DW), protein concentration, oil concentration, and starch concentration in immature seed during seed fill

项目 Item	温度处理 Temperature treatment	Evans vs PI132.217	Evans vs proto	Proto vs PI132.217
干重 DW	高温 HT	0.8837	0.5504	0.4580
	中温 MT	0.8328	0.5778	0.7291
	低温 LT	0.3442	0.8902	0.2795
蛋白质 Protein	高温 HT	0.0064	0.0214	0.6355
	中温 MT	0.0141	0.0003	0.1742
	低温 LT	0.0020	0.0002	0.4124
脂肪 Oil	高温 HT	<.0001	0.0068	0.0243
	中温 MT	<.0001	0.1003	<.0001
	低温 LT	0.0003	0.5508	<.0001
淀粉 Starch	高温 HT	0.2946	0.6521	0.1371
	中温 MT	0.4403	0.9277	0.3891
	低温 LT	0.3981	0.5299	0.8268

黑粗体表示基因型间差异显著 ($P \leq 0.05$) Differences between genotypes significant at $P \leq 0.05$ are indicated in bold

单个成熟种子的 DW 是由种子的生长速率和种子生长时间决定的。本研究对不同温度条件下种子干物质积累模式研究结果表明,在种子发育过程中大豆种子干物质积累最快是在中温(24℃),相反,当高于或低于该温度时,种子干物质积累过程受到抑制。Pipolo^[13]用组培研究发现在 25℃ 时大豆种子生长最快,当温度高于 29℃ 或低于 21℃,种子干物质积累均下降。但是种子最高日积累速率为 $5\text{mg} \cdot (\text{d} \cdot \text{seed})^{-1}$ ^[13, 25],这个值低于本研究的 $9\text{mg} \cdot (\text{d} \cdot \text{seed})^{-1}$ (表 1)。这主要是由于计算种子生长速率所用生长期不同。本研究仅计算在开花后 21d 到 30d,9~10d 内积累的 DW 来计算种子干物质积累速率。虽然干物质积累的绝对量显得略

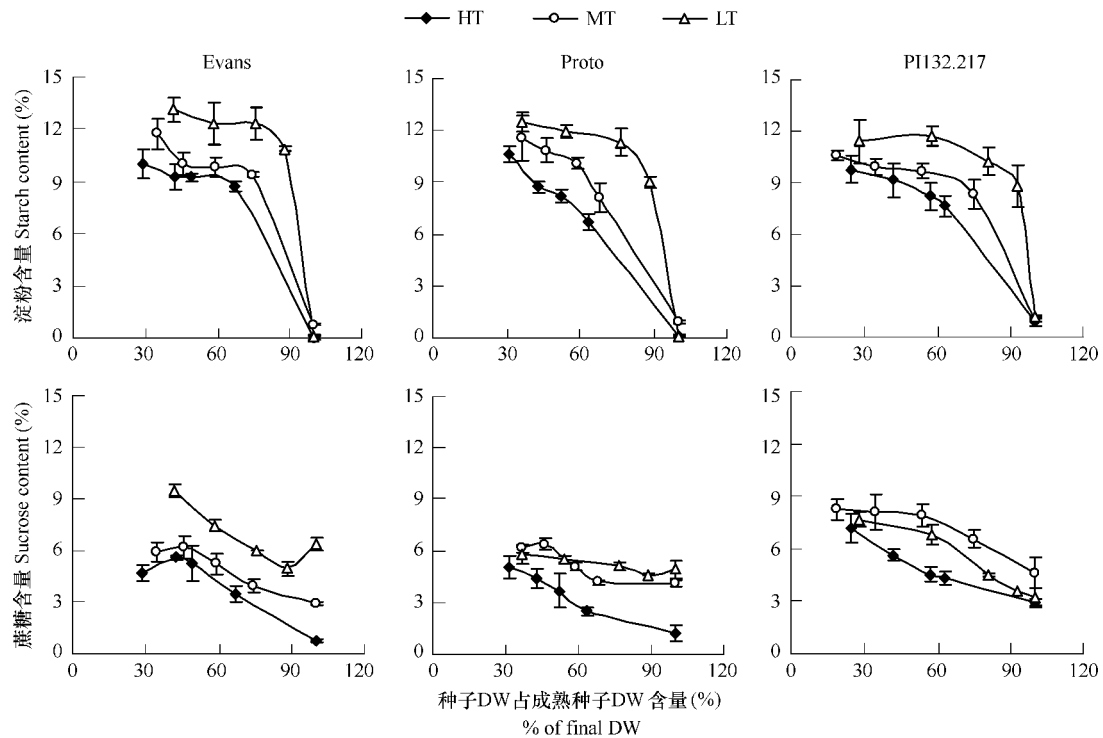


图3 种子快速生长期温度对种子淀粉和蔗糖含量的影响

Fig. 3 Response of seed starch and sucrose concentration to temperature during seed fill

种子生育期用不同时期各品种种子干重占其最终成熟种子干重百分比表示以消除大豆品种间生育期不同带来的影响;每个测定重复3次;图中 HT 表示高温, MT 示中温, LT 示低温 Data are present on a of final seed fry weight basis to normalize temporal differences in development among genotypes; Data are mean $\pm$ SE of 3 reps of 5 pods each; HT-high temperature; MT-moderate temperature; LT-low temperature

高,但是仍能代表种子干物质积累趋势。

高温和低温均抑制种子干物质的积累而引起单个种子 DW 的下降,但是所涉及的生理过程却不同。生长在高温下的植株(31℃),在开花 45d 后种子生长速率最大时,其叶片变黄,豆荚变成褐色,生长期较中温下植物的生长短 4d。Egli^[26] 获得了类似的结果,并认为叶子变黄是由于高温加速了叶片的老化。Dyer^[27] 在比较了生长箱和营养液中种子的生长速率后发现,在 30℃ 以下,两者的种子生长对温度的反应是相同的,然而当温度高于 30℃ 时,生长在营养液中的子叶仍能保持生长趋势,而生长在植株上的种子的生长则停止。他认为这是由于在高温下生长在植株上的种子从母体上得不到足够的同化物供应而引起的叶片老化。本研究进一步表明高温引起种子快速生长,造成 N 缺乏而使植株衰老从而导致种子生长期缩短,种子干物质积累量减少。相反,生长在低温条件下的植株(16℃),在开花 45d 后种子生长速率最大时,叶片仍很绿,豆荚仅有 50% 变成褐色,种子生育期较中温延长。但是由于种子在低温下代谢活力低,种子生长慢同样使种子干物质积累量减少。

3.2 温度对种子脂肪积累过程的影响

温度影响种子的组成成分,种子中的蛋白质含量与脂肪含量成负相关,并且不同基因型品种在蛋白质含量和脂肪含量上有差异并受环境影响^[5,14,28]。但是,温度如何影响种子中蛋白质和脂肪积累过程?该过程与成熟种子组分的关系是什么?决定种子组分的是遗传因子,还是环境因子?回答这些问题,对未来培育高产、高蛋白质大豆是十分重要的。

本研究表明,温度从 16℃ 提高到 24℃,成熟种子中脂肪含量增加,但是当温度进一步提高到 31℃ 时,脂肪含量不再增加,并略有下降。这一结果与以前的报道一致^[15,28],高温降低种子脂肪含量。

大豆种子脂肪积累模式表明,在种子发育过程中种子脂肪含量最大是在种子获得总干重 60% ~ 70% 时。

Halvorsen^[29]也发现脂肪合成最快的时间是在开花后 25d。这表明脂肪合成最快的时间是在种子发育的早中期。但是比较不同温度下种子脂肪积累模式,脂肪合成速度和达到最高量的时间受温度影响(图 2)。在高温下(31℃),在种子获得总干重的 65% 时种子脂肪含量达到最大;中温(24℃),是在 70% (Evans, Proto) 或 75% (PI132.217);低温(16℃),是在 85%。低温明显降低脂肪合成速度,延迟种子脂肪含量达到最大量的时间。温度对种子脂肪积累模式的影响与其生长有关,由于低温降低了种子的生长速度而降低种子脂肪的合成速率,而使整个种子发育过程中种子脂肪含量均低于高温和中温。高温,尤其是种子发育早期的高温能使种子在短时间有个快速的脂肪积累,但伴随着高温对种子后期生长的影响而使其脂肪积累受到抑制。这进一步表明成熟种子的脂肪含量与种子的早期发育密切相关。尽管 3 个基因型大豆品种的脂肪积累模式没有差异,但是,在不同温度条件下,3 个基因型大豆品种在脂肪含量上显著差异($P < 0.0001$) (表 3), Evans (低蛋白高脂肪品种)种子脂肪含量在不同温度处理和各发育阶段均高于 Proto 和 PI132.217 (高蛋白质品种),这表明温度不能改变他们脂肪合成的遗传潜力。

3.3 温度对种子蛋白质积累过程的影响

随温度从 16℃ 提高到 31℃,成熟种子中的蛋白质含量呈上升趋势。这一结果与许多报道一致^[5,10,11,13,14],但在蛋白质合成最适温度上略有不同。有研究报道^[14],随温度提高到 35℃ (40/30℃),种子中蛋白质含量增加,温度高于 35℃ (40/30℃)则下降。而 Gibson^[11]指出在温度 33℃ 时,蛋白质含量最高。本研究表明蛋白质合成最高温度是在 31℃。这些研究在蛋白质合成最高温度线上的差异可能与各实验所用的最高温度和品种不同有关。值得注意的是,成熟种子中高蛋白质含量是在高温下获得,而在种子发育过程中快速的种子蛋白质积累是在中温处理下获得(表 2)。其原因有两个:(1)统计方面概念不同,蛋白质含量是用占种子 DW 的百分比来计算,忽略每个种子的 DW,由于高温限制种子干物质的积累,中温有利于干物质积累,统计学上就会得出高温下种子蛋白质含量高。(2)蛋白质积累速率的计算仅仅是利用了种子获得总干重的 60% ~ 70% 之前的 9 ~ 10d,而它与干物质的积累速率是相关的。

研究结果还表明种子发育晚期的温度对成熟种子中蛋白质含量有显著影响。但是对比 3 个基因型大豆种子发育过程中蛋白质积累模式就会发现,在不同温度处理下高蛋白质品种 Proto 和 PI132.217 (蛋白质稳定型)蛋白质积累速率总是高于低蛋白质品种 Evans,而且,在种子发育的不同阶段两者的蛋白质的含量差异显著($P < 0.05, 0.001$) (表 4)。这表明温度虽然可以调节种子蛋白质的积累速率,但是却不能改变品种在蛋白质合成上的遗传特性。

温度从平均温度 16℃ 提高到 24℃,成熟种子中脂肪和蛋白质含量均随温度升高而增加,两者成正相关。Pipolo^[13] (用组培), Gibson 和 Mullen^[10,11], Piper 和 Boote^[5] (用整株植物)也得到了相同的结果。但是种子发育过程中蛋白质和脂肪的积累模式的相关关系明显受温度调节(图 2)。在低温条件下,种子蛋白质和脂肪含量均随着种子的发育而增加,两者成正相关。但在高温(31℃)和中温(24℃)条件下,在种子获得总干重的 60% 以前,种子蛋白质和脂肪随种子发育而增加,在种子获得总干重的 60% 以后,脂肪含量不再增加并略有下降,而蛋白质含量持续增加(图 2,图 3)。结合对种子发育过程中淀粉含量的分析结果发现,提高温度明显加速了淀粉分解,使淀粉含量迅速下降。这表明提高温度可以加速淀粉分解,并使大量的 C 参与蛋白质的合成。因此,提高种子生长后期的温度在提高种子蛋白质含量上十分重要。

本文所获得的资料进一步表明遗传育种在提高大豆种子蛋白质含量上起决定作用,而合理的农业种植技术,例如根据当地气候条件选择适宜的播种期和合适的大豆品种使大豆种子蛋白质的快速合成期与当地最高温出现的时间相吻合,这在提高大豆种子蛋白质和脂肪含量上也是不可忽视的问题。

References:

- [1] Thompson S. Investing checkoff dollars. Soybean Review, 2002, March: 20 – 21.
- [2] Burton J W. Quantitative genetics: results relevant to soybean breeding. In: J. R. Wilcox ed. Soybeans: Improvement Production, and Uses. 2nd ed. Agron. Monograph No. 16, Agronomy Society of America-Crop Science Society of America-Soil Science Society of America, Madison, 1987.

211—247.

- [3] Cober E R, Voldeng H D. Developing high protein, high yield soybean population and lines. *Crop Sci.*, 2000, 40:39—42.
- [4] Nakasathien S, Israel D W, Wilson R F, *et al.* Regulation of seed protein concentration in soybean by supra-optimal nitrogen supply. *Crop Sci.*, 2000, 40: 1277—1284.
- [5] Piper E L, Boote K J. Temperature and cultivar effects on soybean seed oil and protein concentrations. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999,76: 233—241.
- [6] Huxley P A, Summerfield R J, Hughes P. Growth and development of soybean as affected by tropical day-lengths, day/night temperature and nitrogen nutrition. *Ann. Appl. Biol.*, 1976,82:117—133.
- [7] Sionit N, Strain B R, Flint E P. Interaction of temperature and CO₂ enrichment on soybean: growth and dry matter partitioning. *Can. J. Plant Sci.*, 1987, 67:59—67.
- [8] Sionit N, Strain B R, Flint E P. Interaction of temperature and CO₂ enrichment on soybean: Photosynthesis and seed yield. *Can. J. Plant Sci.*, 1987, 67:629—636.
- [9] Seddigh M, Jolliff G D. Night temperature effects on morphology, phenology, yield and yield components of indeterminate field-grown soybean. *Agron. J.*, 1984,76:824—828.
- [10] Gibson L R, Mullen R E. Influence of day and night temperature on soybean seed yield. *Crop Sci.*, 1996, 36:98—104.
- [11] Gibson L R, Mullen R E. Soybean seed composition under high day and night growth temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996,73:733—737.
- [12] Kane M V, Steele C C, Grabau L J, *et al.* Early maturing soybean cropping system: III protein and oil contents and oil composition. *Agron. J.*, 1997, 89:464—469.
- [13] Pipolo A E, Sinclair T R, Camara G. Effects of temperature on oil and protein concentration in soybean seeds cultured in vitro. *Assoc. Appl. Biol.*, 2004,144:71—76.
- [14] Thomas J M, Boote K J, Allen L H, *et al.* Elevated temperature and carbon dioxide effects on soybean seed composition and transcript abundance. *Crop Sci.*, 2003,43:1548—1557.
- [15] Wolf R B, Cavins J F, Kleiman R, *et al.* Effect of temperature on soybean seed constituents; oil, protein moisture, fatty acids, amino acids, and sugars. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1982,59:230—232.
- [16] Fox J D, Robyt J F. Miniaturization of three carbohydrates analyses using microsample plate reader. *Analytical biochemistry*, 1991,195, 93—96.
- [17] Cherry J H, Bishop L, Leopold N, *et al.* Patterns of fatty acid deposition during development of soybean seed. *Ibid*, 1984,23: 2183—2186.
- [18] Sangwan N K, Gupta K, Hinds K S. Fatty acid composition of developing soybean. *J. Agric. Food Chem*, 1998,34:415—417.
- [19] Dornbos D L, McDonald M B. Mass and composition of developing soybean seeds at five reproductive growth stages. *Crop Sci.*, 1986, 26: 624—630.
- [20] Gbikpi P J, Crookston R K. Effect of flowering date on accumulation of dry matter and protein in soybean seeds. *Crop Sci.*, 1981,21:652—655.
- [21] SAS Institute, SAS/STAT User's Guide, Release, V 6.06 Ed., SAS Institute, Cary,
- [22] Baker J T, Allen L H, Boote K J, Jones P, Jones J W. Response of soybean to air temperature and carbon dioxide concentration. *Crop Sci.*, 1989, 29:98—105.
- [23] Dornbos D L Jr, Mullen R E. Influence of stress during soybean seed fill on seed weight, germination, and seedling growth rate. *Can. J. Plant Sci.*, 1991, 71: 373—383.
- [24] Hesketh J D, Myhre D L, Willey C R. Temperature control of time intervals between vegetative and reproductive events in soybean. *Crop Sci.* 1973,13:250—257
- [25] Obendorf R L, Timpo E E, Byrne M C, *et al.* Soya bean seed growth and maturation *in vitro* without pods. *Ann. Bot.*, 1984,53:853—863.
- [26] Egli D B, Wardlaw I F. Temperature response of seed growth characteristics of soybean. *Agron. J.*, 1980,72:560—564.
- [27] Dyer D J, Cotterman C D, Cotterman J C. Comparison of in situ and in vitro regulation of soybean seed growth and development. *Plant Physiol.*, 1987, 84:298—303.
- [28] Dornbos D L Jr, Mullen R E. Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustments by drought and temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1992, 69:228—231.
- [29] Halvorsen H. The gas exchange of flax seeds in relation to temperature. I. Experiments with immature seeds and capsules. *Physiol. Plant.*, 1955, 8:501—511.