

文章编号: 0529-6579 (2000) S2-0112-07

番茄种子萌发的交叉耐性研究*

陈 玲¹, 宋松泉¹, 钱春梅^{1,2}, 傅家瑞¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广州 510275;

2. 华南农业大学生物技术学院, 广州 510642)

摘 要: 研究不同温度和水分胁迫对番茄种子萌发速率的影响, 温度、NaCl 和 PEG 6000 预处理对番茄种子萌发和幼苗生长的交叉耐性诱导. 在 15 °C、25 °C 和 30 °C 中, 50% 萌发需要的时间分别是 186 h、43 h 和 48 h; 50% 萌发需要的热时间 (thermal time) 分别为 116 °C d、45 °C d 和 60 °C d; 当萌发温度为 35 °C 时, 种子的萌发速率和萌发率被严重地抑制, 在整个萌发过程中未出现 50% 萌发的时间, 以及 50% 萌发需要的热时间远远大于 210 °C d. 随着水势降低, 种子的萌发速率、萌发率和幼苗生长量显著下降. 15 °C、25 °C 和 30 °C, -0.1 MPa、-0.2 MPa 和 -0.4 MPa 的 NaCl 和 PEG 6000 溶液预处理明显地提高番茄种子萌发和幼苗生长的交叉耐性.

关键词: 交叉耐性; 萌发活性; 番茄种子; 预处理; 温度; 热时间; 水分胁迫

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A

在许多植物中, 环境条件的逐渐变化诱导植物对极端环境的耐性^[1]. 研究资料表明植物存在交叉耐性 (cross-tolerance): 植物组织暴露于某种适度胁迫可诱导出对其他胁迫的耐性^[1]. 例如, 水分胁迫授与各种冬性禾谷类植物的抗冷性 (Cloutier 和 Andrews, 1984) 和诱导水稻的耐冷性^[2]. 盐胁迫促进马铃薯和菠菜幼苗的耐冷性^[3]. 热胁迫保护植物不受重金属的毒害 (Orzech 和 Burke, 1988), 增加抗盐性^[4], 诱导水分胁迫耐性 (Bonham-Smith 等, 1987) 以及减少冷敏感种类例如番茄果实、绿豆下胚轴和黄瓜子叶的冷伤害^[5]. 我国区域辽阔, 气候条件非常复杂, 各种胁迫因子不同程度地制约着植物 (农作物) 的生长发育和产量. 广东珠江三角洲地区在 7~9 月份, 由于气温较高, 各种蔬菜的生长都受到严重的抑制, 出现蔬菜供应淡季. 本文以番茄种子为材料, 研究了种子萌发/生长过程中交叉耐性的诱导, 试图为探明植物交叉耐性的机制和提高植物的胁迫耐性提供理论依据.

1 材料和方法

供试材料为金丰番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Jinfeng) 种子, 购自广州市蔬菜

* 基金项目: 国家教育部留学回国人员科研启动基金资助项目

收稿日期: 2000-08-08;

作者简介: 陈 玲 (1976~), 女, 硕士研究生.

通讯联系人:

宋松泉.

研究所.

1.1 萌发实验

种子经选择后, 播种于垫有两层滤纸的培养皿 ($\Phi = 6\text{ cm}$) 中, 加入 5 mL 无离子水, 然后分别在 15 °C、25 °C、30 °C 和 35 °C 下暗中萌发不同时间后, 测定萌发率和生长量. 胚根突破其周围结构计算为萌发.

1.2 水分胁迫对种子萌发的影响

分别按照 van't Hoff (1887) 和 Michel^[6] 的方法配制不同水势的 NaCl 和 PEG (polyethylene glycol) 6000 溶液. 用不同水势的 NaCl 和 PEG 溶液取代水, 置于 25 °C 下暗中萌发不同时间后, 测定萌发率和生长量.

1.3 交叉耐受性分析

种子首先分别在 15 °C、25 °C 和 30 °C (暗) 下, 以及在 -0.1、-0.2、-0.4 MPa 的 NaCl 和 PEG 溶液中 (25 °C, 暗) 进行预处理, 然后转移至 35 °C 下暗中萌发不同时间, 分析种子萌发的交叉耐受性.

2 结 果

2.1 不同温度对种子萌发和幼苗生长的影响

当萌发温度为 15 °C ~ 30 °C 时, 番茄种子的萌发速率随着萌发温度的上升和萌发时间的延长而增加 (图 1). 在 15 °C、25 °C 和 30 °C 中, 50% 萌发需要的时间分别是 186 h、43 h 和 48 h; 而完全萌发需要的时间则分别是 360 h、134 h 和 134 h (图 1). 然而, 当萌发温度为 35 °C 时, 种子的萌发速率和萌发 % 被严重地抑制, 最终萌发率为 29.3%, 比 25 °C 下降低了 70% (图 1).

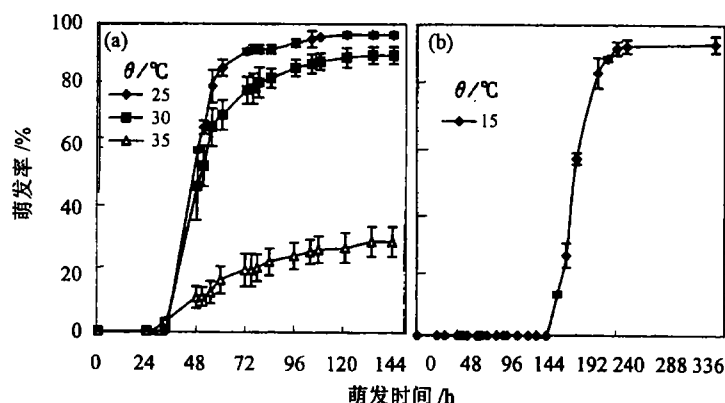


图 1 不同温度对番茄种子萌发速率和萌发率的影响

所有的数据均为 50 粒种子 3 次重复的平均值 + 标准差

此外, 萌发温度不同, 50% 萌发和最终萌发需要的热时间 (thermal time) 也是不同的; 15 °C 时分别为 116 °C d 和 225 °C d, 25 °C 时为 45 °C d 和 140 °C d, 30 °C 时为 60 °C d 和 168 °C d, 以及 35 °C 时远远大于 210 °C d (未表明数据). 萌发温度也显著地影响幼苗的生长 (表 1), 在 35 °C 下萌发的幼苗发生明显的坏死现象.

2.2 水分胁迫对种子萌发的作用

用 NaCl 和 PEG 6000 配制一系列不同水势的溶液. 在水分胁迫下, 番茄种子的萌发速率和萌发率随着水势的降低而显著下降 (图 2). 在 0 MPa, -0.1 MPa, -0.2 MPa 和 -0.4 MPa 的 NaCl 溶液中, 50% 萌发所需要的时间分别是 52 h, 54 h, 56 h 和 103 h, 在第 6 天的萌发率分别为 92%, 94%, 92% 和 80.7%; 然而, 在 -0.6 MPa 和 -0.8 MPa 的 NaCl 溶液中, 未出现 50% 萌发所需要的时间, 在第 6 天的萌发率分别为 34.7% 和 0 (图 2a).

表 1 萌发温度对幼苗生长的影响¹⁾

温度/℃	鲜物质质量/(mg·株 ⁻¹)	干物质质量/(mg·株 ⁻¹)	健壮度
25	19.1±0.2	1.9±0.0	++++
30	17.4±1.5	1.6±0.1	+++
35	6.4±1.2	0.9±0.2	+

2) 在种子萌发的第 6 天测定已萌发种子的幼苗鲜质量和干质量.

所有的数据均为已萌发种子的幼苗鲜质量和干质量的平均值 + 标准差.

与 NaCl 具有相同水势的 PEG 6000 表现出类似的抑制种子萌发的趋势, 但抑制效应更为明显 (图 2b). 例如在 -0.4 MPa 和 -0.6 MPa 的 NaCl 溶液中, 种子的萌发率分别为 80.7% 和 34.7%, 而在相同水势的 PEG 6000 中, 种子的萌发率则分别为 34.7% 和 0 (图 2). 值得注意的是, 在 -0.1 MPa 和 -0.2 MPa 的 PEG 6000 溶液中种子的萌发率比在蒸馏水中稍微增加.

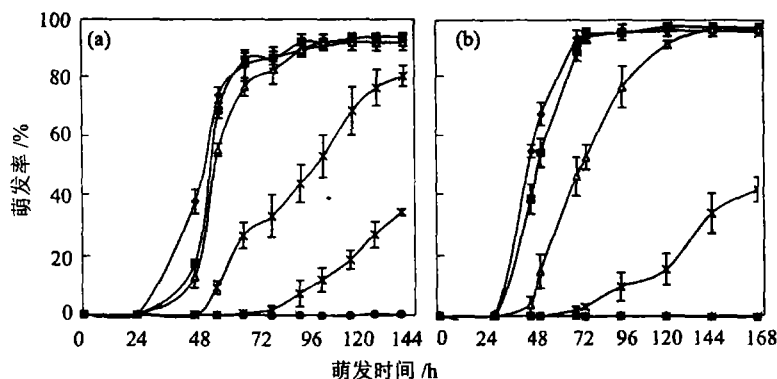


图 2 水分胁迫对番茄种子萌发速率和萌发率的影响

所有的数据与图 1 相同; a, NaCl; b, PEG 6000

随着水势的降低幼苗的生长量下降, 且 PEG 的抑制效应大于 NaCl (表 2); 在水势低于 -0.4 MPa 的 NaCl 和 PEG 溶液中萌发的幼苗发生严重的畸形.

2.3 温度预处理对种子萌发生长的交叉耐性

在 35 ℃ 下番茄种子的萌发生长受到严重的抑制, 最终萌发率和幼苗生长量分别比 25 ℃ 下降低了 70% 和 85.6% (以干质量为基础) (图 1, 表 1). 种子分别在 15 ℃、25 ℃ 和 30 ℃ 中预吸胀在图 3 中表明的时间后, 转移到 35 ℃、黑暗下继续萌发 4 d. 结果表明, 番茄种子萌发的高温耐性诱导与温度预处理的剂量 (处理温度 × 处理时间) 有关, 在 15 ℃、

25 ℃和 30 ℃中的最适预处理时间分别为 120 h, 48 h 和 48 h (图 3a); 在这些预处理剂量下, 种子的萌发率比在 35 ℃下直接萌发的最终萌发率分别增加了 60.8%, 47.0% 和 64.0% (图 3a); 幼苗生长量则分别增加了 69.0%, 46.8% 和 77.2% (以干质量为基础) (图 3b).

表 2 水分胁迫对幼苗生长的影响¹⁾

水势/MPa	鲜物质质量/(mg·株 ⁻¹)		干物质质量/(mg·株 ⁻¹)		健壮度
	NaCl	PEG 6000	NaCl	PEG 6000	
0	17.1±1.3	18.3±0.8	1.7±0.1	1.7±0.1	++++
-0.1	25.0±0.4	15.5±0.1	1.7±0.0	1.6±0.0	++++
-0.2	20.5±0.2	6.8±0.9	1.6±0.0	0.9±0.1	++++
-0.4	7.4±0.6	1.3±0.3	0.9±0.1	0.4±0.1	++
-0.6	2.2±0.2	0	0.5±0.0	0	+
-0.8	0	0	0	0	0

1) 在种子萌发的第 6 天测定已萌发种子的幼苗鲜质量和干质量.

所有的数据均为已萌发种子的幼苗鲜质量和干质量的平均值 + 标准差.

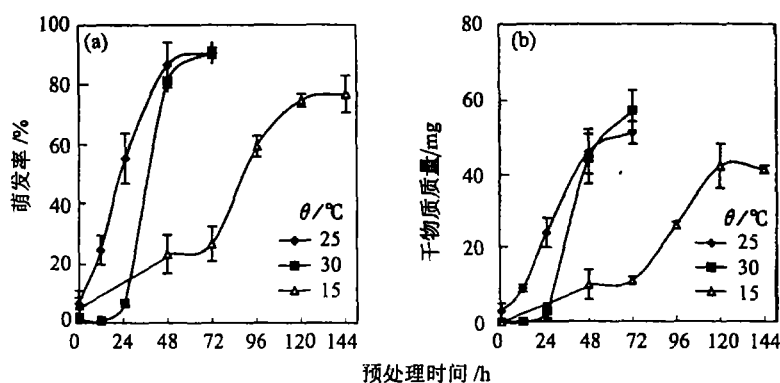


图 3 温度预处理对番茄种子萌发生长的交叉耐性

a, 萌发率; b, 幼苗生长量; 萌发率的数据为 50 粒种子 3 次重复的平均值 + 标准差;
生长量的数据为已萌发种子的幼苗干质量的平均值 + 标准差

2.4 水分胁迫预处理对种子萌发生长的交叉耐性

种子在 25 ℃下经 -0.1 MPa、-0.2 MPa 和 -0.4 MPa 的 NaCl 和 PEG 6000 溶液预处理在图 3 和图 4 中表明的时间后, 用无离子水清洗 5 遍, 然后转移到 35 ℃、黑暗下继续萌发 2 d. 结果表明, 在 -0.1 MPa、-0.2 MPa 和 -0.4 MPa 的 NaCl 溶液预处理后, 种子的最终萌发率比在 35 ℃下直接萌发分别增加了 69.1%, 69.9% 和 68.4% (图 4a); 幼苗生长量分别增加了 81.7%, 83.3% 和 78.7% (以干质量为基础) (图 4b); 以及上述 3 种水势预处理的最适时间分别为 96 h, 96 h 和 144 h (图 4). -0.1 MPa、-0.2 MPa 和 -0.4 MPa 的 PEG 6000 溶液预处理后也能显著地提高种子在 35 ℃下的萌发率 (图 5a) 和幼苗生长量 (图 5b), 但其诱导效应略低于相同水势的 NaCl 溶液 (图 4, 5).

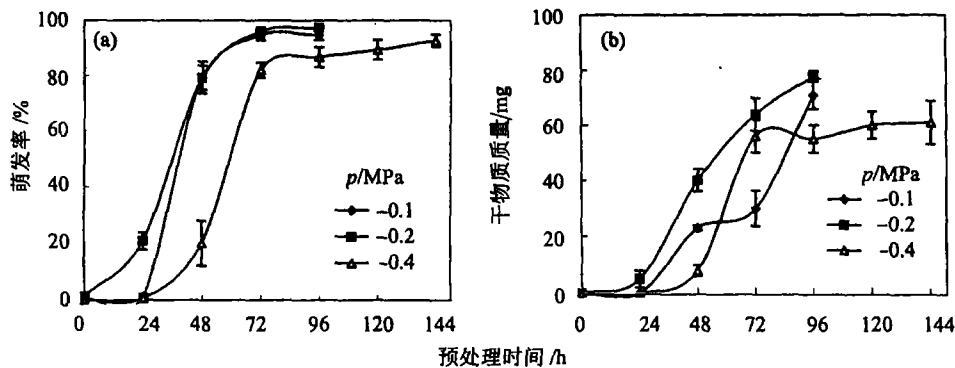


图4 不同水势的 NaCl 溶液预处理对番茄种子萌发生长的交叉耐性
a, 萌发率; b, 幼苗生长量; 萌发率和生长量的数据与图3相同

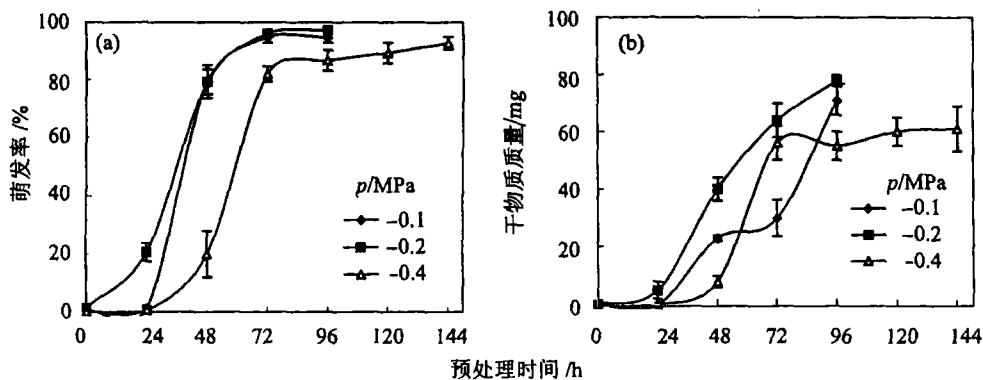


图5 不同水势的 PEG 6000 溶液预处理对番茄种子萌发生长的交叉耐性
a, 萌发率; b, 幼苗生长量; 萌发率和生长量的数据与图3相同

3 讨论

番茄原产南美西部高原地带, 适应高地干燥凉爽的气候特点, 所以不耐高温高湿, 不适于热带地区的平原种植 (齐藤隆和片岡节男, 1981). 在 15 °C、25 °C 和 30 °C 中, 50% 萌发需要的时间分别是 186 h、43 h 和 48 h (图 1); 50% 萌发需要的热时间分别为 116 °C d, 45 °C d 和 60 °C d; 以及当萌发温度为 35 °C 时, 种子的萌发速率、萌发% 和随后的幼苗生长被严重地抑制 (图 1, 表 1); 表明番茄种子萌发的适宜温度为 25 °C, 亚适宜温度为 30 °C, 15 °C 延缓种子的萌发 (低温), 35 °C 则严重抑制种子萌发 (高温); 结果与齐藤隆和片岡节男 (1981) 以及大田观察的报道相似. 齐藤隆和片岡节男 (1981) 发现, 番茄植株生长发育的最适温度为昼温 24 ~ 26 °C, 夜温为 18 °C 左右. 大田观察表明, 金丰番茄在凉爽的天气下生长良好、健壮; 温度超过 33 °C 时, 生长发育不良; 是不耐热品系 (广州市蔬菜研究所番茄育种组, 待发表).

种子萌发伴随着水分吸收开始, 通常胚根延长、突破其周围结构而结束^[7]. 许多植物的种子是非休眠的, 脱落后能在较宽的温度范围内萌发, 似乎决定种子萌发的主要因子、

也许是唯一的因子是水分的可利用性, 因为水分影响大多数生物学反应的进程和动力学^[7]. 在分别由 NaCl 和 PEG 6000 组成的一系列不同水势的溶液中, 番茄种子 50% 萌发所需要的时间、萌发率 (图 2) 和幼苗的生长量 (表 2) 都随着水势的降低而下降, 与 Bradford^[8] 的结论一致, 降低水势对种子萌发的影响是萌发速率和最终萌发率的下降^[8]. 与 PEG 6000 相比较, 低水势 ($-0.1 \sim -0.4$ MPa) 的 NaCl 溶液对番茄种子的萌发似乎没有 Na^+ 的毒害作用 (图 2, 表 2).

种子经 15 °C、25 °C 和 30 °C 预吸胀一段时间后转移到 35 °C 下继续萌发, 种子的最终萌发率 (图 3a) 和幼苗生长量 (图 3b) 比在 35 °C 下 (图 1) 直接萌发显著增加, 说明温度预处理能诱导种子的高温萌发耐性以及处理剂量密切相关; 经 -0.1 、 -0.2 和 -0.4 MPa 的 NaCl 和 PEG 6000 溶液预处理后, 种子的最终萌发率 (图 4a, 5a) 和幼苗生长量 (图 4b, 5b) 比在 35 °C 下直接萌发明显增加, 也说明水分胁迫预处理能诱导种子的高温萌发耐性; 即番茄种子的高温萌发具有明显的交叉耐性机制. 但是, 是种子在温度和水分胁迫预处理过程中合成了某些保护性物质、还是种子在这些预处理过程中某些生理生化过程的恢复提高了种子的高温萌发耐性? 这些方面的研究到目前为止仍然是缺乏的. Bewley^[9] 认为, 溶质渗漏、线粒体和 DNA 的修复以及利用预存的 mRNA 合成蛋白质是种子萌发过程中的原初事件.

目前关于植物交叉耐性现象的机制有 3 种解释: ① 专一蛋白的诱导. 由一种胁迫因子诱导的专一蛋白在对其他胁迫的保护中起作用. 由水分胁迫诱导的冷耐性包含干旱调节基因的活化^[2], 盐胁迫通过活化冷和 ABA 反应基因促进抗冷性^[3]. ② 抗氧化途径的活性. 抗氧化途径的酶包括超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶, 以及抗坏血酸-谷胱甘肽循环的酶. 在对热、冷、冰冻、盐、干旱、机械伤害和氧化胁迫反应中, 这些酶具有较高的活性水平^[10]. 不同胁迫条件下抗氧化酶的过分产生表明, 在植物获得耐性的过程中这些蛋白质具有普遍的作用^[1]. ③ 较低相对分子质量化合物的积累. 在一些系统中, 热、盐和重金属之间的相互作用涉及低分子量化合物例如腐胺、类渗透素蛋白 (osmotin-like proteins) 和脯氨酸的积累^[4]. 在番茄种子高温萌发的交叉耐性中, 哪一种机制起主要作用, 以及这 3 种机制之间的关系如何, 有待进一步的研究.

致谢 伍贤进同志曾给予部分实验帮助, 谨致谢忱.

参考文献:

- [1] SABEHAT A, WEISS D, LURIE S. Heat-shock proteins and cross-tolerance in plants. *Physiol Plant*, 1998, 103: 437 ~ 441.
- [2] TAKAHASHI R, JOSHEE N, KITAGAWA Y. Induction of chilling resistance by water stress, and cDNA sequence analysis and expression of water stress-regulated genes in rice. *Plant Mol Biol*, 1994, 26: 339 ~ 352.
- [3] RYU S B, COSTA A, XIN Z, LI P H. Induction of cold hardiness by salt stress involves synthesis of cold and abscisic acid-responsive proteins in potato (*Solanum commersonii* Dun). *Plant Cell Physiol*, 1995, 36: 1245 ~ 1251.
- [4] KUZNETSOV V, RAKUTIN V, BOISOVA N, ROTSCHUPKIN B. Why does heat shock increase salt resistance in cotton plants? *Plant Physiol Biochem*, 1993, 31: 181 ~ 188.
- [5] COLLINS G, NIE XL, SALTVEIT M. Heat shock proteins and chilling sensitivity of mung bean hypocotyls. *J Exp*

- Bot, 1995, 46: 795 ~ 802.
- [6] MICHEL B E. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiol*, 1983, 72: 66 ~ 70.
- [7] BEWLEY J D, BLACK M. *Seeds, Physiology of development and germination*. New York: Plenum Press, 1994.
- [8] BRADFORD K J. Water relations in seed germination. In: KIGEL J, GALILI G (eds). *Seed development and germination*. New York: Marcel Dekker, Inc, 1995, 351 ~ 396.
- [9] BEWLEY J D. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 1997, 9: 1055 ~ 1066.
- [10] FOYER C H, DESCOURVIERES P, KUNERT K J. Protection against oxygen radicals: An important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ*, 1994, 17: 507 ~ 523.

Studies on Germination Cross-Tolerance of *Lycopersicum esculentum* Mill. Seeds

CHEN Ling^{*}, SONG Song-quan, QIAN Chun-mei, FU Jia-rui

Abstract: Effects of different temperature and water stress on germination rate of *Lycopersicum esculentum* Mill. seeds, and induction of cross-tolerance by temperature, NaCl and PEG 6000 in seed germination and seedling growth were studied. The times required for 50% germination were 186 h at 15 °C, 43 h at 25 °C and 48 h at 30 °C, respectively. The thermal times for 50% germination were 116 degree days (°Cd) at 15 °C, 45 °Cd at 25 °C and 60 °Cd at 30 °C, respectively. When the germination temperature was 35 °C, germination rate and germination percentage were greatly inhibited, the times required for 50% germination had not been found, and the thermal times for 50% germination was more than 210 °Cd. Germination rate and germination percentage of seeds, and consequent seedling growth significantly decreased with decrease of water potential. Cross-tolerance for seed germination and seedling growth was dramatically increased by pretreatment of 15 °C, 25 °C and 30 °C, and of -0.1 MPa, -0.2 MPa, and -0.4 MPa NaCl and PEG 6000.

Keywords: cross-tolerance; germination activity; *Lycopersicum esculentum* Mill. seeds; pretreatment; temperature; thermal time; water stress

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China