

文章编号: 0529-6579 (2000) S2-0104-08

绿豆种子吸胀过程中脱水耐性变化的时间模式*

钱春梅^{1,2}, 宋松泉¹, 伍贤进¹, 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: 以绿豆种子为材料, 研究种子吸胀过程中的萌发行为、脱水耐性的变化以及不同脱水速率对脱水耐性丧失的影响。在吸胀过程中, 种子含水量迅速增加, 不表现出典型的吸水三阶段模式; 种子的电解质渗漏速率和相对电导率显著增加直到 3 h, 然后下降。50% 种子萌发需要的时间和热时间分别是 5.5 h 和 7 °Cd。在种子预吸胀过程中, 种子的脱水耐性和由脱水后存活种子产生的幼苗生长量逐渐下降, 50% 种子丧失脱水耐性的时间是 7 h, 以及脱水后种子的电解质渗漏明显增加。下胚轴的脱水耐性大于胚根。吸胀 12 h 的绿豆种子对脱水非常敏感; 缓慢脱水时, 50% 种子丧失脱水耐性的水分含量(以干质量计)为 0.15 g·g⁻¹。根据水分含量对存活率、幼苗生长和电解质渗漏的影响, 缓慢脱水比快速脱水好。这些结果表明, 吸胀的绿豆种子脱水耐性的丧失是一种数量特征, 吸胀的正常性种子脱水耐性的变化可以作为种子顽拗性研究的一个模式系统。

关键词: 脱水; 脱水耐性; 萌发活性; 吸胀; 正常性种子; 绿豆

中图分类号: Q 945 **文献标识码:** A

正常性种子在发育过程中获得脱水耐性, 随后经历成熟脱水作为发育的最后阶段。所有的正常性种子在脱落后能够被进一步脱水, 且存活较长的时间。而顽拗性种子脱落时含有较高的含水量, 不耐脱水, 常常对低温敏感^[1,2]。已经提出一些过程或者机制授予, 或者有助于种子的脱水耐性。不同的过程可能在水合水平对水分丧失起保护作用, 这些过程的一种或者几种的缺乏或者无效表达可能决定个别种类种子的脱水敏感性程度^[3]。

种子吸水起始一系列导致萌发的代谢事件, 随着萌发进程种子的脱水耐性逐渐丧失。在萌发的早期阶段和胚根突破种皮之前, 大多数种类种子能够干燥到它原来的含水量, 而不引起伤害。然而, 在萌发的后期阶段, 相同程度的脱水将显著降低种子的生活力; 如果在胚根延长开始后脱水, 常常导致幼苗死亡^[4]。

* 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; 国际植物遗传资源研究所 (IPGRI) 基金资助项目

收稿日期: 2000-08-08; 作者简介: 钱春梅 (1969 ~), 女, 讲师, 硕士; 通讯联系人: 宋松泉。

Senaratna 和 McKersie^[5]发现, 萌发 6 h 的大豆(*Glycine max* L. Merr cv. Maple Arrow)种子能够忍受严重脱水, 而萌发 36 h 的种子则不能被脱水. Koster 和 Leopold^[6]发现, 吸胀 12 ~ 18 h 的大豆(*G. max* L. Merr. cv. Williams)种子, 吸胀 18 h ~ 24 h 的豌豆(*Zea mays* L. cv. Merit)种子, 以及吸胀 48 h 的玉米(*Zea mays* L. cv. Merit)种子丧失脱水耐性. Koster 和 Leopold^[6]认为, 脱水耐性的丧失与胚中糖的组成的变化有关. Leprince 等^[7]利用电解质渗漏来测定萌发的菜豆(*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pole Kentucky Wonder)和玉米(*Z. mays* L. cv. Kelvedon Glory)种子的“临界含水量(critical moisture content)”;当种子被脱水到低于临界含水量时, 种子被脱水伤害;他们认为这种伤害是由呼吸代谢产生的氧自由基引起的. 在一些研究中, 测定脱水耐性时, 萌发的种子仅仅被干燥到单个含水量;在另一些研究中, 仅仅用电质渗透来评价种子的脱水耐性, 而没有存活的数据;而且确定存活的标准也不同.

在一定的温度下, 吸胀不同时间的正常性种子能够为脱水耐性和脱水敏感性的研究提供具有不同脱水耐性的实验材料^[8]. 本文以绿豆种子为材料, 研究了种子吸胀过程中的萌发行为、脱水耐性变化的模式以及不同脱水速率对脱水耐性丧失的影响;试图为更好地解释正常性种子脱水耐性丧失的时程, 确定种子吸胀/萌发过程中这种定量特性变化的模式, 以及为顽拗性种子的研究提供新的信息.

1 材料和方法

供试材料为 2000 年收获的绿豆(*Phaseolus radiatus* L.)种子, 购于广州市康乐种子商店. 种子保存在 15 °C 下, 备用.

1.1 种子预吸胀处理

种子经选择和用 $\rho = 1\%$ NaClO 消毒后, 放在垫有两层滤纸的培养皿中 ($\Phi = 12$ cm), 加入 15 mL 水, 然后在 30 °C、暗中吸胀.

1.2 含水量的测定

种子在 80 °C 中烘至恒质量, 以干质量为基础计算含水量.

1.3 脱水处理

缓慢脱水: 种子吸胀后, 放在 27 °C ~ 30 °C, 65% ~ 75% 相对湿度中脱水不同时间. 快速脱水: 种子吸胀后, 将其埋在活性硅胶中 (28 °C) 脱水不同时间.

1.4 萌发率和存活率的测定

干种子或者经过脱水不同时间的种子 (和/或者幼苗) 放在垫有两层滤纸的培养皿中 ($\Phi = 12$ cm), 加入 15 mL 水, 然后在 30 °C、暗中萌发一定时间后, 计算萌发率和存活率. 胚根突破种皮 2 mm 计算为萌发; 胚根或者下胚轴在体积或者质量上明显增加被计算为存活. 尽管在一些幼苗的下胚轴基部长出侧根, 但只计算胚根的存活.

1.5 电解质渗漏的测定

将 30 粒种子或者经脱水不同时间的种子 (和幼苗) 放在 30 mL 无离子水中, 在 30 °C、暗中放置 3 h 后, (期间摇动数次), 用 DDS-11A 型电导率仪测定种子浸泡液的电导率 (A_1); 然后将其置于沸水浴中 1 h 后, 测定煮沸后种子浸泡液的电导率 (A_2). 相对渗漏率 = A_1/A_2 .

2 结 果

2.1 种子吸胀过程中发生的变化

绿豆种子的含水量为 0.10, 吸水速率较快, 吸胀 4 h 和 8 h 时, 含水量分别比干种子增加了 87.0% 和 92.9% (图 1a); 但在整个吸胀过程中未出现典型的“快—慢—快”三个阶段模式。

种子的电解质渗漏速率随着吸胀时间显著增加, 直到 3 h 达到高峰, 以干质量计, 为 $56.6 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$; 然后逐渐下降, 当种子吸胀 8 h (萌发率为 89%) 时, 渗漏速率几乎为零 (图 1b)。

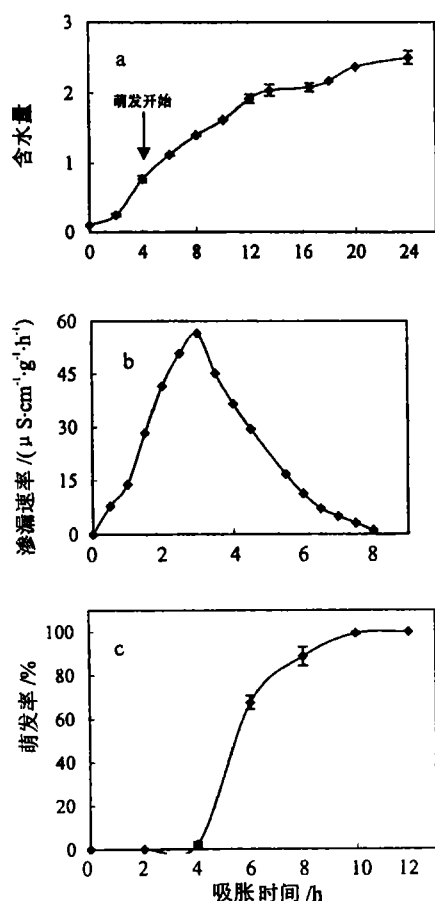


图 1 绿豆种子吸胀过程中的变化

- (a) 种子中含水量的时程, 数据为 50 粒种子 3 次重复的平均值 + 标准差 (SE);
 (b) 电解质渗漏速率的变化, 数据为 30 粒种子 3 次重复的平均值;
 (c) 萌发率的变化, 数据为 100 粒种子 3 次重复的平均值 + SE。

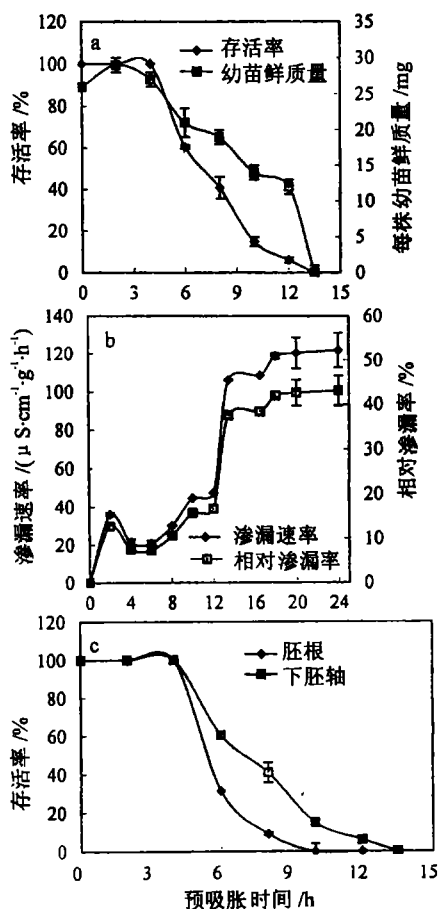


图 2 预吸胀过程中绿豆种子脱水耐性的变化

- (a) 存活率和由存活种子产生的幼苗鲜质量; 存活率的数据为 50 粒种子 3 次重复的平均值 + SE; 幼苗鲜重不包括种皮, 数据为 3 次重复的平均值 + SE;
 (b) 电解质渗漏速率和相对渗透率; 数据为 30 粒种子 3 次重复的平均值 + SE;
 (c) 由存活种子产生的胚根和下胚轴的存活率; 数据为 3 次重复的平均值 + SE

种子的初始萌发时间大约为吸胀的 4 h; 50% 萌发的时间 (T_{50}) 和热时间 (thermal time) 分别为 5.5 h 和 7 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$; 100% 萌发的时间和热时间则分别为 12 h 和 15 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ (图 1c).

2.2 预吸胀作用对种子脱水耐性的影响

预吸胀不同时间的种子放在 27 $^{\circ}\text{C}$ ~ 30 $^{\circ}\text{C}$, 65% ~ 75% 相对湿度中脱水到大约 0.12 g/g 的含水量, 然后测定电解质渗漏或者置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 暗中萌发 50 h. 结果表明, 预吸胀 4 h 内的绿豆种子是耐脱水的, 且幼苗鲜质量比未预吸胀的干种子稍微增加; 当预吸胀时间长于 4 h, 种子的脱水耐性 (存活率和幼苗鲜质量) 逐渐下降; 脱水耐性丧失 10% 和 50% 的时间分别是 4.5 h 和 7.0 h (图 2a).

脱水后种子的电解质渗漏速率和相对渗漏率随着预吸胀时间的延长显著增加; 在预吸胀过程中出现两个明显增加的阶段, 第一个阶段位于预吸胀的 0 ~ 2 h, 第二个阶段位于预吸胀的 12 ~ 14 h (此时种子的脱水耐性完全丧失) (图 2a, b).

图 2c 表明, 绿豆下胚轴的脱水耐性大于胚根, 脱水耐性丧失 50% 的预吸胀时间分别是 7.0 h 和 5.0 h; 脱水耐性完全丧失的时间分别是 13.5 h 和 10.0 h. 此外, 下胚轴的长度也明显大于胚根 (未表明数据).

2.3 不同干燥速率对种子脱水耐性的作用

为了评价和定量萌发过程中脱水耐性的变化, 绿豆种子首先被预吸胀 12 h, 然后分别进行快速和缓慢脱水. 预吸胀 12 h 的种子含水量为 1.79, 快速或者缓慢脱水 12 h 时, 种子的含水量分别为 0.07 和 0.35 (图 3a); 快速和缓慢脱水使 50% 含水量下降需要的时间分别为 0.7 h 和 4.5 h (未表明数据).

随着脱水进程, 种子的脱水耐性、由存活种子产生的胚根和下胚轴的存活率 (图 3b, c) 以及幼苗生长量 (包括长度和质量, 表 1, 2) 显著下降. 胚根的脱水耐性大大低于下胚轴, 快速和缓慢脱水明显地影响胚根和下胚轴的脱水耐性及生长量 (图 3b, c; 表 1, 2); 例如, 胚根的存活率丧失 50% 时, 快速和缓慢脱水的种子含水量分别为 1.4 和 1.2 (图 3b); 下胚轴的存活率丧失 50% 时, 快速和缓慢脱水的种子含水量分别为 0.20, 0.15 (图 3c).

表 1 快速脱水对幼苗生长的影响

脱水时间/h	含水量	长度/cm		每株鲜质量/mg
		胚根	下胚轴	
0	1.79	5.0 ± 0.2	5.4 ± 0.1	28 ± 1
0.5	1.11	2.4 ± 0.1	3.9 ± 0.1	21 ± 1
1	0.75	1.8 ± 0.6	3.0 ± 0.2	18 ± 1
2	0.47	0	1.3 ± 0.1	16 ± 1
4	0.26	0	0.9 ± 0.1	18 ± 1
6	0.17	0	0.8 ± 0.1	18 ± 1
8	0.12	0	0.3 ± 0.1	18 ± 1
10	0.10	0	0	0

种子预吸胀 12 h 后, 埋在硅胶中快速脱水标明的时间, 然后在 30 $^{\circ}\text{C}$ 暗中萌发 50 h, 所有的数据均为 3 次重复的平均值 + SE. 当脱水超过 2 h 后, 畸形苗增多.

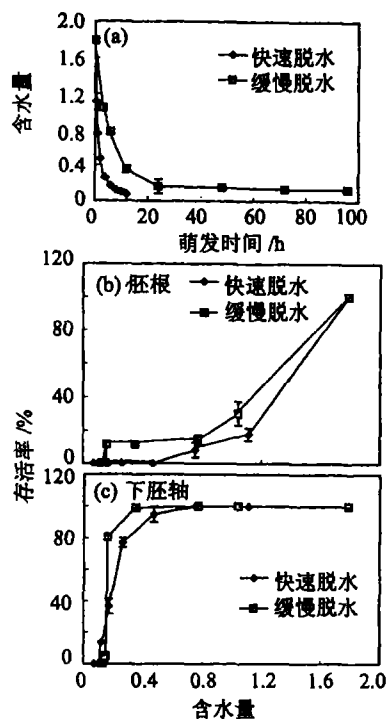


图 3 不同脱水速率对预吸胀

绿豆种子的含水量和存活率的影响

(a) 种子含水量的变化; 由存活种子产生的胚根 (b) 和下胚轴 (c) 的存活率;
种子存活率 = 下胚轴的存活率 (未表明数据); 所有的数据为 3 次重复的平均值 + SE

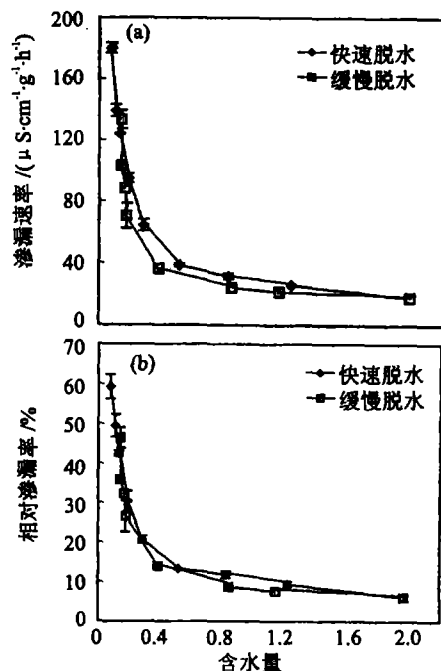


图 4 不同脱水速率对预吸胀绿豆种子的

电解质渗漏速率和相对渗漏率的影响

(a) 电解质渗漏速率; (b) 相对渗漏率; 所有的数据为 30 粒种子 3 次重复的平均值 + SE.

表 2 慢速脱水对幼苗生长的影响

脱水时间/h	含水量	长度/cm		每株鲜质量/mg
		胚根	下胚轴	
0	1.79	5.0 ± 0.2	5.4 ± 0.1	28 ± 1
3	1.04	3.5 ± 1.6	4.6 ± 1.9	25 ± 1
6	0.77	3.1 ± 1.1	4.0 ± 0.9	22 ± 1
12	0.35	0	3.2 ± 1.0	21 ± 1
24	0.16	0	1.3 ± 0.5	16 ± 1
48	0.15	0	0.7 ± 0.2	15 ± 1
72	0.13	0	0.5 ± 0.3	16 ± 1
96	0.13	0	0	0

种子预吸胀 12 h 后, 在 $25 \sim 29^{\circ}\text{C}$ 、58% ~ 66% 相对湿度缓慢脱水标明的时间, 然后在 30°C 暗中萌发 50 h; 所有的数据均为 3 次重复的平均值 + SE. 当脱水超过 6 h 后, 畸形苗增多.

种子的电解质渗漏速率和相对渗漏率也随着脱水而变化; 种子含水量从 1.8 下降到 0.4 时, 电解质渗漏速率和相对渗漏率缓慢增加; 含水量低于 0.4 时, 则显著增加; 当种子存活率

下降到 0 时,快速脱水引起的电解质渗漏速率和相对渗漏率分别比未脱水的种子增加了约 87.2% 和 87.6% (图 4a).此外,在脱水过程中电解质渗漏速率和相对渗漏率的变化趋势一致;快速脱水所引起的电解质渗漏大于缓慢脱水 (图 4a,b).

3 讨 论

绿豆种子在 30 °C 下的吸水曲线随着吸胀时间延长一直上升,未出现明显的平稳时期 (plateau phase, phase II) (图 1a);可能是绿豆种子吸胀和萌发速率较快.吸胀 2 h 时,含水量增加了 60.0%;吸胀 4 h,含水量增加了 87.0%,且种子开始萌发 (图 1a,c).阶段 II 的长度由吸胀温度和种子吸胀时周围介质的水势所决定^[9].

从吸胀起始直到 3 h,种子的电解质渗漏速率显著增加;然后逐渐下降,到吸胀 8 h 时,渗漏速率接近于零 (图 1b).在吸胀初期,水分进入干种子的细胞将导致结构、特别是膜结构的暂时紊乱,一些溶质和相对分子质量小的代谢物将即时地和迅速地渗漏进入种子周围的介质.这是膜磷脂组分从成熟脱水过程中形成的凝胶相向正常的水合的液晶态转变的结果.在重新水合的短时间内,膜恢复到更稳定的构型,溶质渗漏减少^[9].

在脱水前增加种子预吸胀的时间导致种子存活率和幼苗鲜重下降 (图 2a),电解质渗漏速率增加 (图 2b),表明预吸胀的绿豆种子其脱水耐性是逐渐丧失的.但预吸胀 4 h 的种子能够耐脱水 (图 2a,b).这些结果类似于吸胀的菜豆和玉米种子脱水耐性的丧失^[7].

绿豆下胚轴的脱水耐性远远大于胚根 (图 2c),说明种子中不同的器官其脱水耐性也有差异,但原因是不清楚的.预吸胀 4 h (刚刚开始萌发) 的种子耐脱水的原因也不清楚,可能是种子中存在着某些脱水耐性的保护物质,随着萌发活性 (germination activity) 的增加,这些保护性物质逐渐丧失. Vertucci 和 Farrant^[3] 提出,脱水耐性是一种数量性状.绿豆种子的脱水耐性 (以含水量对种子、胚根和下胚轴的存活率,对存活种子产生的幼苗生长量,以及对电解质渗漏的影响) 随着脱水时间的延长逐渐丧失 (图 3b,c; 表 1,2).这些结果表明,吸胀的绿豆种子其脱水耐性的变化不是一种“全或者无的反应 (all-or-nothing response)”.用 50% 存活率丧失时的含水量更能准确地表达吸胀种子脱水敏感性的变化.

快速脱水对吸胀的绿豆种子的伤害明显地大于慢速脱水 (图 3b,c; 表 1,2).对发育的花生种子脱水耐性的研究表明,快速脱水比慢速脱水显著地提高致死水分含量 (杨晓泉等,未发表资料).这些结果与顽拗性种子的脱水行为相反,快速脱水大大降低顽拗性种子和胚轴的致死水分含量^[10-13].关于脱水速率对吸胀的正常性种子和顽拗性种子的作用机制值得进一步研究.绿豆种子随着预吸胀进程逐渐丧失脱水耐性,这种脱水耐性的变化是一种主要取决于种子萌发活性的数量性状.在 28 ~ 30 °C 中萌发的种子比在 22 ~ 23 °C 中更不耐脱水^[8].脱水诱导的伤害水平取决于与氧气和温度有关的代谢强度^[7].不同种类的顽拗性种子,其脱落后的贮藏行为不同;同一种类的顽拗性种子,在不同的收获季节、或者不同的个体之间也有差异^[1].顽拗性种子的其他特征是脱落时它们具有代谢活性;这种现象可能是发育的继续,或者是萌发的开始^[1,3].顽拗性种子之间的这些差异使得比较研究成为困难.萌发的正常性种子的许多特征类似于刚脱落的顽拗性种子,包括脱水敏感性、高度的亚细胞发育和代谢活性、受发育阶段和干燥环境影响的敏感性程度、以及脱水伤害可能与自由基调节的氧化胁迫有关^[1,3,11,14].利用同一批种子能够制备具有不同脱水敏感性和发育阶段的萌发种子,通过改变种子吸胀过程中的温度、氧气和水势能够控制种子的萌发活性和脱水敏感性.

因此,吸胀的正常性种子的脱水敏感性可以作为研究种子顽拗性和植物干旱耐性的模式系统。

致谢 南非纳塔尔大学生命和环境科学学院的 Berjak P 教授和 Pammenter N W 教授为本文提供了部分学术思想,本实验室的陈玲同志给予了部分实验帮助,谨致谢意。

参考文献:

- [1] BERJAK P, PAMMENTER N W. Progress in the understanding and manipulation of desiccation ~ sensitive (recalcitrant) seeds. In: ELLIS R M, BLACK M, MURDOCH A J, HONG T D (eds). Basic and applied aspects of seed biology. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1997. 689 ~ 703.
- [2] SMITH M T, BERJAK P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and -sensitive seeds. In: KIGEL J, GALILI G (eds). Seed development and germination. New York: Marcel Dekker Inc, 1995. 701 ~ 746.
- [3] VERTUCCI C W, FARRANT J M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL J, GALILI G (eds). Seed development and germination. New York: Marcel Dekker Inc, 1995. 237 ~ 271.
- [4] MCKERSIE B D, SENARATNA T, WALKER M A, et al. Deterioration of membranes during aging in plants: evidence for free radical mediation. In: NOODEN L D, LEOPOLD A C (eds). Senescence and aging in plants, San Diego, Academic Press Inc, 1988. 441 ~ 464.
- [5] SENARATNA T, MCKERSIE B D. Dehydration injury in germinating soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds. Plant Physiology 1983, 72: 620 ~ 624.
- [6] KOSTER K L, LEOPOLD A C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. Plant Physiology, 1988, 88: 829 ~ 832.
- [7] LEPRINCE O, VERTUCCI C W, HENDRY G A F, et al. The expression of desiccation-induced damage in orthodox seeds is a function of oxygen and temperature. Physiologia Plantarum, 1995, 94: 233 ~ 240.
- [8] SUN W Q. Desiccation sensitivity of recalcitrant seeds and germinated orthodox seeds: can germinated orthodox seeds serve as a model system for studies of recalcitrance? In: MARZALINA M, KHOO K C, JAYANTHI N, Tsan FY, KRISHNAPILLAY B (eds). Proceedings of IUFRO seed symposium 1998, "Recalcitrant seeds", Kuala Lumpur, Malaysia, 1999. 29 ~ 42.
- [9] BEWLEY J D. Seed germination and dormancy. The Plant Cell, 1997, 9: 1055 ~ 1066.
- [10] 宋松泉, 傅家瑞. 黄皮种子脱水敏感性与膜脂过氧化作用. 植物生理学报, 1997, 23: 163 ~ 168.
- [11] PAMMENTER N W, BERJAK P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. Seed Science Research 1999, 9: 13 ~ 37.
- [12] PAMMENTER N W, BERJAK P, WALTERS C. The effect of drying rate on recalcitrant seeds: 'lethal water contents', causes of damage, and quantification of recalcitrance. In: BLACK M, BRADFORD K J, VÁZQUEZ-RAMOS J (eds). Seed Biology: Advances and Applications. Cambridge: CABI Publishing, 2000. 215 ~ 221.
- [13] PAMMENTER N W, GREGGAINS V, KIOKO J, et al. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis*. Seed Science Research 1998, 8: 463 ~ 471.
- [14] SONG S Q, FU J R. Desiccation sensitivity and peroxidation of membrane lipids in lychee seeds. Tropical Sciences, 1999, 39: 102 ~ 106.

Temporal Pattern of Changes in Desiccation Tolerance During Imbibition of *Phaseolus radiatus* L. Seeds

QIAN Chun-mei^{*}, SONG Song-quan, WU Xian-jin, FU Jia-rui

Abstract: Mung bean (*Phaseolus radiatus* L.) seeds were used as experimental material. Germination behaviour and changes in desiccation tolerance of seeds during imbibition, and effect of different dehydration rate on desiccation tolerance were studied. Water uptake by seeds rapidly increased with imbibition, and did not exhibited a typical triphasic pattern of water uptake. Rate of electrolyte leakage and relative leakage from seeds dramatically increased up to 3 h of imbibition, and then declined. The time and thermal time required for 50% germination seeds were 5.5 h and 7 degree days, respectively. During pre-imbibition of seeds, desiccation tolerance of seeds and seedling growth rate produced by survival seeds was progressively decreased, and imbibition time at which 50% of seeds were lost dehydration tolerance was 7 h, and electrolyte leakage from seeds which were pre-imbibed and consequently dehydrated significantly increased. Desiccation tolerance of hypocotyl was larger than that of radicle. Mung bean seeds imbibed for 12 h were very sensitive to desiccation. Water content at which 50% seeds were killed by dehydration was $0.15 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1} \text{ DW}$ as dehydration rate was slow. On the basis of the influence of water content on survival, seedling growth and electrolyte leakage, slow dehydration was better than rapid dehydration. The results showed that the loss of desiccation tolerance of imbibed mung bean seeds was a quantitative feature, and that the changes in desiccation tolerance of imbibing orthodox seeds could serve as a model system for the study of seed recalcitrance.

Keywords: dehydration; desiccation tolerance; germination activity; imbibition; orthodox seed; *Phaseolus radiatus* L.

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;
College of Biotechnology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China