

黄皮种子脱水敏感性与其水份状况的关系^{*}

姜孝成 杨晓泉 金剑平 傅家瑞

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

摘 要 不同发育时期黄皮种子胚轴中水份状况有差异, 其中生理成熟期胚轴中不可冻结水的比例最低, 可冻结水的熔解热焓则较高. 成熟黄皮种子脱水程度越大, 胚轴中水份状态转换的起始温度和能量越低, 且脱水至较低含水量时不形成玻璃化状态, 这完全不同于正常性种子.

关键词 黄皮种子, 脱水敏感性, 水份状况

分类号 Q 945. 6

束缚水又称为不可冻结的 (Non-freezable) 水, 其热力学特性和流体特性都有别于自由水 (或冻结的水). 一般认为束缚水已构成细胞结构的一部分, 细胞能否存活取决于保持这类水份的能力^[1]. 玉米胚和其他正常性种子在常温下干燥时细胞质中有玻璃化状态形成^[2], 而不耐脱水或热杀死的种子无论干燥到什么含水量, 虽然含有可冻结水, 但细胞质中不会出现玻璃化状态^[3], 因此认为细胞质玻璃化状态与种子的耐脱水性和生活力有关. 顽拗性种子有别于正常性种子的一个显著特点是在成熟脱落时仍保持较高的水份含量 (如黄皮种子为 50.4% (FWB)^[4]), 且对脱水非常敏感, 水份稍降时即严重影响其生活力. 一些学者^[5]认为顽拗性种子胚轴中不可冻结水的含量和可冻结水的熔解热焓与其脱水敏感性之间有某种相关性. 但顽拗性种子中水份状况变化的原因和作用至今尚未阐明. 本文以典型顽拗性的黄皮种子的去子叶胚 (即胚轴) 为材料探讨了这一问题.

1 材料和方法

1.1 材 料

黄皮品种“鸡心” (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels cv. Jixin), 栽培于广州市郊岭南园艺场. 在花后不同天数 (DAA) 采收的果实运抵实验室, 即剥出种子并用自来水和蒸馏水先后冲洗干净, 在室温下凉干表面水份后, 加入 4% 百菌清, 拌匀后装入聚乙烯薄膜袋 (厚度 0.2 mm) 中, 置于 15℃ 下保湿存放, 用时取出.

1.2 水份热力学特性测定

不同处理的黄皮胚轴密封于铝制样品盘中, 从零上 20℃ 降温至零下 60℃ (10℃ /min), 停留 10 min 后以相同速率升温至零上 20℃, 用 Pekin Elmer Corp (Norwalk, CT) DSC-2

^{*} 国家自然科学基金 (39470082), 国家教委博士点基金 (9455808) 和广东省自然科学基金资助项目

收稿日期: 1996-01-29 姜孝成, 男, 32 岁, 博士, 现在湖南师范大学

C型差示扫描量热仪记录降温 and 升温温谱图. 通过温谱图基线上下的峰面积计算水份状态转换的能量. 曲线最陡部分的切线与基线的交叉点所示温度值为外推起始温度.

1. 3 胚轴含水量测定

分别取各处理种子的胚轴 50个, 称量鲜重后置铝盒中于 90℃ 烘箱中烘至恒重, 含水量以鲜重为基础 (FWB) 表示.

1. 4 萌发试验

用玻板直立发芽法. 7 d后统计种子萌发率和测量简易活力指数. 凡胚根伸出种皮 2 mm 以上者被认为萌发. 活力指数 = 萌发率× 胚根的平均长度

2 结 果

2. 1 不同发育时期种子的贮藏特性及其胚轴中水份状况分析

将不同发育时期采收并湿存于 15℃ 条件下的种子, 同时置于装有 KNO₃ 饱和溶液 (保持空气相对湿度 90%) 的密闭容器中, 20~ 30℃ 条件下使种子中水份达到动态平衡, 然后测定各自的含水量、萌发率和活力指数变化, 结果如表 1. 可以看出, ① 水份平衡后, 72 DAA 种子的水份含量最低, 即其中容易失去的水份 (自由水) 比例最高, 87 DAA 采收的种子中的水份较低, 水份平衡后已很难再失水. ② 黄皮种子随发育, 其活力指数不断上升, 不见有休眠现象; 经过湿藏和水份平衡以后, 早于 72 DAA 采收的种子活力指数明显提高, 而且愈提前采收, 水份平衡后活力指数提高幅度愈大; 但 81 DAA 以后采收的种子, 水份平衡后活力指数下降, 因此认为 72 DAA 为种子生理成熟期.

表 1 不同发育时期黄皮种子的贮藏特性¹⁾
Tab. 1 The storage properties of wampee seeds of different developmental stages

花后 天数	湿藏 天数	胚轴含水量 (% FNB)			萌发率 (%)		活力指数	
		采收时	水份平 衡	保持水份 (占采收时 水份的 %)	采收时	水份平 衡 后	采收时	水份平 衡 后
58	55	71. 4	51. 9	72. 7	85	95	1. 0	16. 5
65	48	66. 8	55. 3	82. 8	100	100	6. 5	19. 0
67	46	65. 8	55. 6	84. 5	100	100	7. 8	16. 7
72	41	64. 2	44. 4	69. 2	100	100	9. 8	12. 0
81	32	60. 0	46. 7	77. 8	100	100	12. 4	6. 7
87	26	52. 4	51. 1	98. 1	100	100	17. 6	11. 2

1) 58DAA 以前的种子生活力很低, 且胚轴太小, 难于处理, 故本文中未采用

经过上述处理后的各发育时期胚轴中的水份与细胞内大分子物质之间的结合力, 用 DSC 分析表明各自水份的热力学特性 (表 2) 存在明显差异. 从降温曲线中最大峰出现时温度值的变化可推知 72 DAA (生理成熟期) 的胚轴中不可冻结水的比例最小, 因为种子的水份中不可冻结水比例增大时, 最大峰温值会向低温方向移动. 同时, 降温过程中各发育时期

胚轴中水份状态转变的起始温度都在 -21°C 以下,表明其不可冻结水含量都相当高.而熔融时,各发育时期胚轴中可冻结水的转换峰温最大值都在 0°C 附近(用更高分辨率 DSC 检测时出现尖峰),其水份特性与纯水相似^[5]; 0°C 以下熔融峰代表的水份的特性则相似于溶液.此外,无论在降温还是熔融过程中,转换热焓均以成熟期胚轴为最高.

表 2 不同发育时期黄皮种子湿藏和水份平衡后胚轴中水份的热力学特性
Tab. 2 The thermodynamic properties of water in axes during different developmental stages and after dynamic equilibrium of water

DAA /d	含水量 %	降温曲线			熔融曲线		
		转换起始 温度 ($^{\circ}\text{C}$)	转换热焓 (J/g)	最大峰 温 ($^{\circ}\text{C}$)	转换起始 温度 ($^{\circ}\text{C}$)	转换热焓 (J/g)	最大峰温 ($^{\circ}\text{C}$)
58	51.9	- 28.3	182.6	- 29.1	- 10.2	197.7	- 1.3
65	55.3	- 26.5	172.4	- 27.4	- 7.6	188.0	1.1
67	55.6	- 23.8	173.9	- 24.8	- 7.6	191.6	0.9
72	44.4	- 23.0	183.0	- 24.2	- 8.4	201.2	- 0.4
81	46.7	- 21.7	171.8	- 28.5	- 8.3	185.9	- 0.1
87	51.1	- 28.0	174.3	- 28.8	- 7.5	191.2	0.1

2.2 黄皮成熟种子脱水过程中水份状况的变化

实验(表 3)表明,硅胶干燥脱水程度越大,无论在降温还是熔融过程中,胚轴中水份状态转换的起始温度、最大峰温和转换热焓都不断下降,因此组织中可冻结的比例逐渐减少,不可冻结水的比例逐渐增加.当胚轴含水量下降至 30.1% (FWB) 时,已看不到峰温曲线,此时组织中可冻结水已丧失,而只存在不可冻结水(束缚水).

表 3 黄皮成熟种子脱水时胚轴中水份的热力学特性
Tab. 3 The thermodynamic properties of water in axes during desiccation of mature wampee seeds

硅胶干燥 天数 (d)	含水量 (%)	降 温 曲 线			熔 融 曲 线		
		最大峰温 ($^{\circ}\text{C}$)	转换起始 温度 ($^{\circ}\text{C}$)	转换热焓 (J/g)	最大降温 ($^{\circ}\text{C}$)	转换起始 温度 ($^{\circ}\text{C}$)	转换热焓 (J/g)
1	56.3	- 28.8	- 27.9	181.9	2.6	- 5.6	189.7
2	47.4	- 31.5	- 28.9	145.4	- 0.3	- 8.5	147.7
3	37.5	- 39.0	- 35.2	89.5	- 4.6	- 14.2	109.7
4	30.1	-	-	-	-	-	-
5	25.4	-	-	-	-	-	-

2.3 脱水后的黄皮成熟种子吸湿平衡后胚轴中水份状况的变化

黄皮成熟种子(含水量 62.0%;萌发率 100%;活力指数 11.0)经硅胶干燥不同天数后,重新放入装有饱和 KNO_3 溶液(保持空气相对湿度 90%)的密闭容器中吸湿,使其水份恢复平衡状态,然后测定其活力变化,含水量和水份状况,实验表明(表 4),种子经任何程度的脱

水后,再吸湿时水份都不能恢复到脱水前的水平,种子的活力指数也大幅度下降,但经硅胶干燥 1~ 2 d后再吸湿处理的种子活力指数反而提高。

表 4 脱水后的黄皮成熟种子的含水量、萌发率、活力指数和胚轴中水份的热力学特性

Tab. 4 The thermodynamic properties of water in axes after dynamic equilibrium in relation to germination percentage, vigour index during desiccation of mature wampee seeds

硅胶干燥含水量 天数 (d)	含水量 (%)	萌发率 (%)	活力 指数	降 温 曲 线			熔 融 曲 线		
				最大峰 温 (°C)	转换起 始温度 (°C)	转换热焓 (J/g)	最大峰 温 (°C)	转换起 始温度 (°C)	转换热焓 (J/g)
0	48.9	100	2.1	- 26.6	- 25.1	145.9	- 1.5	- 9.3	161.9
1	49.2	100	4.0	- 27.3	- 25.6	167.9	- 1.0	- 9.0	182.8
2	48.0	100	5.6	- 29.3	- 28.0	163.4	- 1.5	- 9.8	181.6
3	48.9	25	0.2	- 35.2	- 34.4	136.4	- 3.2	- 12.7	151.0
4	47.6	0	0	- 38	- 36.9	122.8	- 5.7	- 15.5	138.0

可以认为脱水程度较轻,干燥 6 d再吸湿的种子完全死亡.水份状况分析表明,种子经硅胶干燥时间越长,降温过程中水份状态转换的起始温度和最大峰温都向低温方向移动,即不可冻结水的比例逐渐增加,吸湿处理不能改变这种变化趋势,但转换热焓只有脱水程度较大(硅胶干燥 3 d以后)种子生活力显著下降时才明显降低;在升温过程中,转换起始温度、最大峰温和转换热焓均在种子明显丧失生活力时出现明显下降,因此可进一步看出种子中水份状况与其活力变化之间存在着某种相关性。

3 讨 论

Berjak等^[5]研究不同发育时期顽拗性种子 *Landalphia kirkii* Dyer和茶籽胚轴中水份热力学特性时发现,脱水敏感性较小时期的胚轴含较少的不可冻结水和较高的熔解热焓,本研究也得出了类似结果,即生理成熟期的黄皮种子脱水敏感性最小,胚轴中水份的不可冻结水的比例也最小,可冻结水的转换热焓则最高。

Farrant等^[7]认为随着顽拗性种子的萌动,不可冻结水的水平增加,种子脱水敏感性也增加.黄皮种子生理成熟后采收则持水能力增强,不可冻结水的比例增加,可以推测此时种子已进入萌动状态。

正常性(耐脱水)种子脱水至一定程度时,细胞质可出现玻璃化状态,可避免脱水对细胞的伤害.可是,顽拗性种子如海榄雌 (*Avicennia marina*) 在任何含水量时都检测不到玻璃化状态^[8].根据水份的热力学特性,水份状态转换热焓的变化与种子活力变化关系密切,即转换热焓明显降低时正是种子活力急剧下降时.与正常性种子相较,顽拗性种子脱水时细胞内发生劣变,引起水份状况变化,但又不能形成抵御脱水伤害的机制(如玻璃化),而正常性种子则具有应变能力。

参 考 文 献

- 1 Vertucci C W, Leopold A C. Water binding in legume seeds. *Plant Physiol*, 1987, 85 224~ 231
- 2 Williams R J, Leopold A C. The glassy state in corn embryos. *Plant Physiol*, 1989, 89 977~ 981
- 3 Bruni F, Leopold A C. Glass transition in soybean seed. Relevance to anhydrous biology. *Plant Physiol*, 1991, 96 660~ 663
- 4 金剑平,傅家瑞,姜孝成.不同发育时期黄皮种子脱水敏感性的研究.热带亚热带植物学报, 1994, 2(2): 58~ 64
- 5 Berjak P, Vertucci C W, Pammenter N W. Effects of development status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis*. *Seed Sci Res*, 1993, 3 155~ 166
- 6 Vertucci C W. Calorimetric studies of the state of water in seed tissues. *Biophysical Journal*, 1990, 58 1463~ 1471
- 7 Farrant J M, Pammenter N W, Berjak P. Recalcitrance - a current assessment. *Seed Sci & Technol*, 1988, 16 155
- 8 Farrant J M, Pammenter N W, Berjak P. Seed development in relation to desiccation tolerance A comparison between desiccation - sensitive seeds of *Avicennia marina* and desiccation-tolerant types. *Seed Sci Res*, 1993, 3 1~ 13

Desiccation Sensitivity in Relation to the Water State in Embryonic Axes of *Clausena lansium* (Wampee) Seeds

Jiang Xiaocheng* Yang Xiaoquan Jin Jianping Fu Jiarui

Abstract The desiccation sensitivity of wampee (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels cv Jixin) seeds was investigated. The fruits were collected at different days after anthesis (DAA) and the embryonic axes were excised from seeds for experiments. In different developmental stages, there were different states of water in embryonic axes of wampee seeds. The ratio of the non-freezable water content in embryonic axes of physiological maturity was the lowest, and enthalpy of melting of the freezable water was higher. As the desiccation degree in the mature wampee seeds was greater, the onset temperature for transition and energy of water state in embryonic axes was lower. There was no formation of vitrification in wampee seeds differing from that in orthodox seeds. The state of water changing in the desiccated wampee axes showed that the deterioration and the partial repair of cells.

Keywords wampee (*Clausena lansium*) seeds, desiccation sensitivity, state of water

* School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275