

中萌发 72 h, 测定发芽率(以胚根突出胚表面 1 mm 为标准)和胚根长度. 简化活力指数为 $G_s = \text{发芽率}(\%) \times \text{胚根长度}(\text{cm})$.

1.4 ABA 提取和测定

按吴颂如等^[3]的方法提取. 于 ME 891 型酶联免疫检测仪上读数, 由 ABA 标准曲线上查出样品 ABA 含量.

1.5 蛋白酶制备和活性测定

参照文献[4]的方法制备, 所得上清液用于内肽酶和羧肽酶活性测定. BAPAase(内肽酶), LAPase 和 AAPase(均为氨肽酶)的测定参照文献[4]的方法. CBPAase(羧肽酶)的测定参照文献[5]的方法.

1.6 贮藏蛋白质和热稳定蛋白的提取和测定

提取参照黄上志, 傅家瑞^[1], 和 Singh 等^[6]的方法; 测定按 Bradford(1976)的方法, 计算热稳定蛋白占总蛋白质含量的比例.

2 结果与分析

2.1 种子发育过程中活力形成过程

离体花生胚的活力指数随着种子的发育而上升, 45 DAP(子房柄入土天数)之后活力指数增加更快一些. 从离体胚萌发率看, 55 DAP 胚已完全获得萌发能力, 但活力指数只有 80 DAP 胚的 27%(图 1).

花生种子发育过程中, 12~20 DAP 内贮藏蛋白质累积量很低, 21~40 DAP 间蛋白质合成加快, 累积增加, 40 DAP 时达到最大值的 36.4%; 此后, 贮藏蛋白质的合成累积的速度大幅度加快. 贮藏蛋白质的含量和种子活力高度相关(两者相关系数 $r=0.9877$), 贮藏蛋白质为种子活力提供了物质基础(图 1).

2.2 内源 ABA 含量与活力的关系

花生种子发育过程中, 内源 ABA 含量一直增加, 65 DAP 时达到最大, 然后有轻微的下降. 40 DAP 后, 内源 ABA 含量维持在较高的水平上(表 1).

表 1 花生种子离体胚萌发时 ABA 含量与活力指数的变化

Tab. 1 Changes of endogenous ABA content and vigor index of peanut embryo in vitro germinating

果针入土后天数/d	15	25	35	45	55	65	75	80
内源 ABA 含量(鲜重)/ng · g ⁻¹	20.5	51.7	110.9	191.8	210.7	207.9	197.3	196.8
离体胚萌发时内源 ABA 含量净下降值(鲜重)/ng · g ⁻¹	5.3	15.5	38.8	65.5	74.7	85.1	110.3	151.7
活力指数	0	0.07	0.44	2.15	3.14	4.39	6.78	8.43

从表 1 中可以看出, 不同 DAP 花生种子离体胚萌发时, 内源 ABA 含量下降了, ABA 含量的净下降值越大, 活力指数也越高, 两者高度相关(相关系数 $r=0.9618^{**}$).

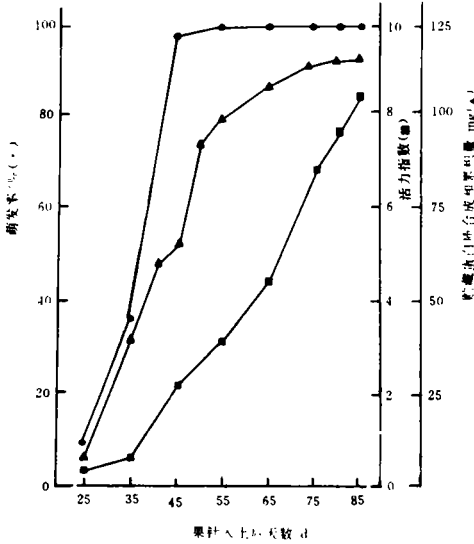


图1 发育中花生胚萌发时活力指数和贮藏蛋白质累积变化

Fig. 1 Changes of vigor index and accumulation of storage proteins in peanut embryo during development

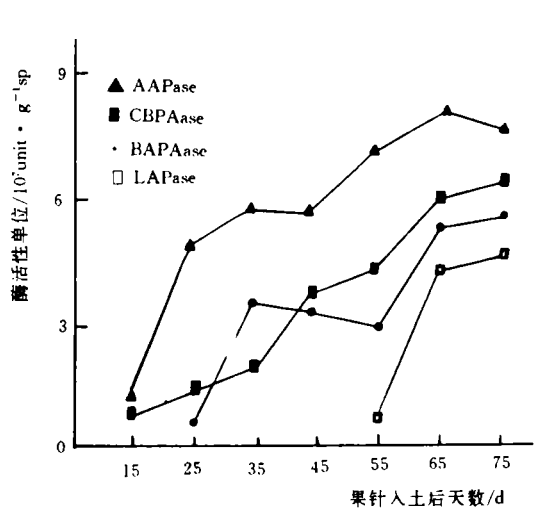


图2 花生种子发育过程中蛋白酶活性变化

Fig. 2 Changes of activities of proteinases in peanut seed during development

2.3 蛋白酶活性变化

花生种子发育过程,15 DAP 的子叶已检测到 AAPase 的活性,35 和 65 DAP 时有两个高峰,65 DAP 后稍有下降;BAPAase 活性在 25 DAP 时就存在了,变化和 AAPase 相似,但 65 DAP 后活性并不下降;CBPAase 活性一直是上升的,15 DAP 时也可检测到其活性;45DAP 时,尚检测不到 LAPase 活性,55 DAP 时活性仍比较低,其后一直增加(图 2)。

从图 3 可以看出,外源 ABA 抑制了花生种子离体胚的 BAPAase, CBPAase 和 LAPase 的活性,单独的 Act-D 或 CHM 处理不抑制 BAPAase, CBPAase 和 LAPase 的活性,Act-D 和 CHM 也不能逆转 ABA 对这些酶的抑制作用. 外源 ABA 不抑制 AAPase 活性,这种作用也不受 Act-D 和 CHM 的影响. 可能是不同蛋白酶对 ABA 反应的特异性所致. 不同 DAP 种子萌发时,蛋白酶活性高峰值和活力指数高度相关($r=0.9873^{**}$)(表 2)。

表 2 蛋白酶活性和种子活力的关系

Tab. 2 Relation between activities of proteinases and vigor index

果针入土 后天数/d	蛋白酶活性高峰值/ $10^{-2} \times \text{unit} \cdot \text{g}^{-1} \text{sp}$				活力指数
	BAPAase	CBPAase	LAPase	AAPase	
25	1.4	4.6	0	1.4	0.01
45	4.2	5.4	5.1	1.8	2.15
65	9.8	9.1	8.4	4.1	4.39
80	10.1	9.8	9.7	6.2	8.43

注:蛋白酶活性高峰值是指不同 DAP 种子萌发 7 d 内测出的;sp 为贮藏蛋白质

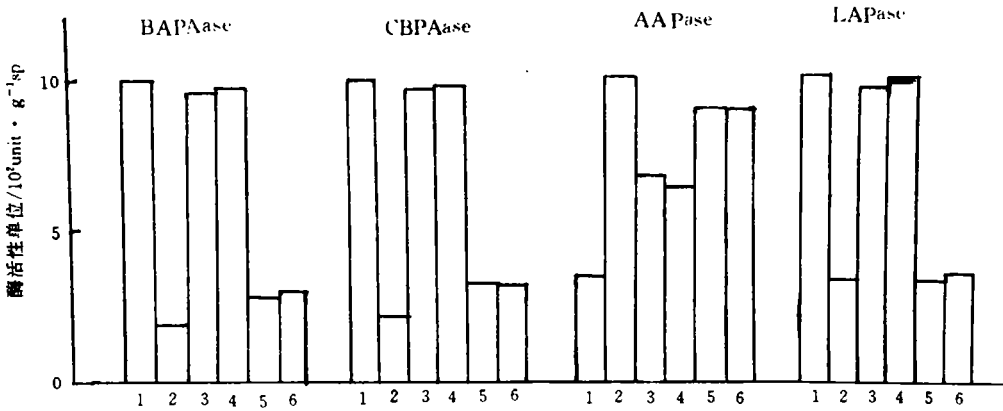


图 3 ABA, Act-D 和 CHM 对花生种子离体胚萌发时蛋白酶活性的影响(萌发 4 d)

Fig. 3 Effect of ABA, Act-D and CHM on activities of proteinases in germinating embryo in vitro of peanut seed

- 1 对照 2 ABA(10^{-4} mol/L) 3 Act-D(20mg/L) 4 CHM (20mg/L)
5 ABA(10^{-4} mol/L)+Act-D(20mg/L) 6 ABA(10^{-4} mol/L)+CHM(20mg/L)

2.4 热稳定蛋白合成

在 25 DAP 胚中,检测不到热稳定蛋白的存在,45 DAP 胚中热稳定蛋白含量占总蛋白的 9%,65 DAP 胚达到 13%。ABA 促进了热稳定蛋白的合成,Fluridone 则起抑制作用。ABA 处理培养 10 d 的离体胚经 LiCl(RH 11%)干燥后萌发,其活力指数明显高于 Fluridone 处理(表 3)。

表 3 经 Fluridone 处理培养 10 d 的胚经 LiCl(RH 11%)干燥后萌发活力指数变化
Tab. 3 Effect on vigor index of germinating peanut embryo in vitro after desiccated by LiCl (RH 11%)

果针入土后 天数/d	热稳定蛋白含量/(%)		活力指数	
	Fluridone 处理	ABA 处理	Fluridone 处理	ABA 处理
15	0	0	0	0
25	0	2.6	0	0.9
35	0	21.3	0	1.2
45	5.4	29.6	0.09	4.3
55	6.1	31.7	0.12	8.4
65	6.7	34.3	0.38	10.7
75	8.9	41.6	0.87	12.4

3 讨论

花生种子发育过程中,一方面合成了提供种子萌发和幼苗生长所需的营养物质;另一方面合成了降解贮藏物质的酶。热稳定蛋白的合成和累积使种子的耐脱水能力增强,使种子具备了抵抗逆境的能力。

ABA 是调控种子发育的重要因子,ABA 促进了贮藏蛋白质的合成和累积,也对热稳定蛋白合成有重要的调控作用.在种子发育过程中,ABA 抑制了蛋白酶的活性,也有可能使它们局限于贮藏蛋白质合成时多肽的修饰;种子萌发时 ABA 含量下降了,蛋白酶活性释放了,开始降解贮藏物质.然而,ABA 调控的机制仍有待进一步的研究.

花生种子发育过程中,离体胚萌发时的活力指数变化表明,种子活力形成并不是一个均衡的过程,45 DAP 之后活力急剧上升了,因此种子萌发能力的形成和活力的形成是有差别的.45 DAP 时萌发率已近 100%,此时活力还很低,这说明,萌发能力的形成是种子活力形成的基础,而贮藏物质合成、累积与逆境保护机制形成也有密切的关系.

参 考 文 献

- 1 黄上志,傅家瑞.花生种子贮藏蛋白质与活力的关系及其在萌发时的降解模式.植物学报,1992,34:543~549
- 2 林鹿,傅家瑞.渗透因素对离体花生胚萌发,内源 ABA 含量和贮藏蛋白质合成与累积的影响.植物生理学通讯,1993,4:270~272
- 3 吴颂如,陈婉芬,周雯.酶联免疫法(ELISA)测定植物内源激素.植物生理学通讯,1988,5:53~57
- 4 Mitsuhashi W, Koshiha T, Minanikawa Y. Influence of axis removed on amino-, carboxy- and endopeptidase activities in cotyledons of germinating *Vigna munge* seeds. Plant Cell Physiol, 1984, 25:247~254
- 5 Chrispeels M J, Boulter D. Control of storage proteins metabolism in the cotyledon of germinating mung beans, Role of endopeptidase. Plant Physiol, 1975, 55:1031~1037
- 6 Singh N K, Handa A K, Hasegawa P M. Protein associated with adaption of cultured tobacco cells to NaCl. Plant Physiol, 1985, 79:126~131

Formation of Peanut Seed Vigor

Lin Lu* Fu Jiarui

Abstract Peanut seed vigor was formed in the process of seed development. During development of peanut seed, synthesis and accumulation of storage proteins, proteinases and heat-stable proteins presented a very close relationship with seed vigor, and ABA played an important role in vigor formation process. Speed of vigor formation was not equal in the process of seed development, It speeded up at later developmental stage.

Keywords peanut seed, vigor formation, abscisic acid (ABA), storage proteins, proteinases, heat-stable proteins

* State Key Laboratory of Pulp and Paper, South China University of Technology, Guangzhou 510641