

黄皮胚轴耐脱水性的诱导^{*}

陆旺金 傅家瑞

(中山大学生命科学院, 广州 510275)

摘 要 不同发育时期黄皮种子的胚轴,经梯度蔗糖及梯度蔗糖加 ABA(10^{-6} mol/L)预培养后,活力指数均有所提高;生理成熟期种子的胚轴经两种方法预培养后可降低胚轴的致死含水量,诱导胚轴的耐脱水性.其中,梯度蔗糖预培养的效果更好.

关键词 黄皮 *Clausena lansium*,胚轴,耐脱水性,诱导

分类号 Q 945

种子耐脱水能力的获得及调控机理的研究是种子生理研究的重要内容,亦是国际上研究的热点.正常性种子耐脱水能力是在种子发育后期的成熟脱水过程中形成的,但顽拗性种子发育后期不经历成熟脱水期,因此不形成耐脱水能力.目前,种子耐脱水能力获得的机理研究较多,主要集中在特异蛋白的合成与可溶性糖积累两个方面^[1],而耐脱水能力调控研究则较少,许多报道都集中在正常性种子^[2,3],而顽拗性种子则几乎是空白.

黄皮 *Clausena lansium* 是典型的顽拗性种子,本文以黄皮种子胚轴为材料,采用梯度蔗糖及梯度蔗糖加 ABA 预培养黄皮胚轴,试图诱导黄皮胚轴的耐脱水性,降低胚轴的致死含水量.

1 材料和方法

1.1 材料 供试的黄皮 *Clausena lansium* 种子于 1994 年采自广州市郊岭南园艺场,品种为“鸡心”.

1.2 试验方法 ① 预培养方法:不同发育时期的胚轴用 70% 乙醇消毒 5~10 s,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 5 min,用无菌水洗净后接种于 3% 蔗糖的 WPM 培养基 (pH 5.8) 中,每隔 2 d 依次转移到 w (蔗糖) 为 11%, 19%, 27%, 35% 的 WPM 培养基中分别培养 2 d;梯度蔗糖加 ABA 预培养方法同上,只是在各培养基中加入过滤灭菌的 10^{-6} mol/L ABA;② 胚轴的脱水:经预培养的胚轴置于超净工作台上无菌吹风脱水 ($U=220$ V),分别于脱水 2, 5, 8, 10 及 12 h 后接种于 w (蔗糖) 为 3% WPM 培养基中,同时测出胚轴的含水量;③ 活力指数的测定:取无菌脱水的胚轴接种于 w (蔗糖) 为 3% WPM 培养基中培养,15 d 后统计发芽率及根长,计算出简易活力指数,每一处理至少 10 个胚轴;④ 含水量的测定:不同脱水时间的胚轴置于称量瓶中 (105 ± 2 °C 烘至恒重,计算出鲜重含水量).

* 国家自然科学基金 (39470082) 和广东省自然科学基金 (940618) 资助项目

收稿日期: 1996-10-08 陆旺金,男,30岁,博士,现在华南农业大学园艺系工作

2 结果与讨论

2.1 预培养提高各发育时期胚轴的活力指数 43 DAA的种子无发芽能力,但若经轻微脱水后则会有 10% 左右的种子发芽,此时的胚轴在 3%蔗糖的 WPM 琼脂培养基中不能发芽,但经梯度蔗糖预培养的胚轴发芽率及活力指数均有所提高.从 43 DAA胚轴开始梯度蔗糖预培养均可以提高其活力指数,虽然接近生理成熟期的种子及胚轴均获得 100% 的发芽率,但活力指数亦有所提高(表 1).从表 1还可以看出:随着种子的发育,胚轴的活力指数持续上升,79 DAA的胚轴经预培养后活力指数上升幅度最大.所以梯度蔗糖预培养的过程中,未成熟种子的胚轴仍在进一步发育,活力指数提高是可以理解的,而对于生理成熟期种子的胚轴,预培养则并非一个简单的水分逆境的过程.预培养后胚轴活力指数的提高与种子轻微脱水后活力指数提高是一致的^[4].

表 1 梯度蔗糖预培养对不同发育时期黄皮胚轴活力指数的影响
Tab. 1 Effect of preculture with gradient of sucrose on vigor index of wampee embryonic axes of different developmental stages

花后天数 /d	43		50		57		71		79		86	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
发芽率 /%	0	80	90	100	100	100	100	100	100	100	100	100
活力指数	0	4.25	6.03	8.50	7.70	11.5	11.1	12.6	11.1	18.2	11.6	14.1

A 对照; B 梯度蔗糖预培养

2.2 生理成熟期种子胚轴耐脱水性的诱导 用 79 DAA的种子胚轴,测定了梯度蔗糖及梯度蔗糖加 10^μmol/L ABA培养后经超净工作台脱水不同时间的含水量及活力指数的变化.从表 2可以看出:经梯度蔗糖及梯度蔗糖加 10^μmol/L ABA预培养后活力指数均上升,尤以未加 ABA的提高幅度大,轻微脱水均可提高胚轴的活力指数;当含水量降至 19.7%时,未经预培养的胚轴活力指数仅为 2.1,而经梯度蔗糖预培养的胚轴含水量降至 21.3%时,活力指数仍为 10.5,继续脱水 2 h,活力指数为 5.0,加 ABA预培养的胚轴含水量为 20.3%时,活力指数为 6.5,这些都远比 2.1高,说明梯度蔗糖及梯度蔗糖加 ABA预培养均可降低胚轴的致死含水量,诱导胚轴的耐脱水性.以 86 DAA的种子胚轴采用梯度蔗糖及梯度蔗糖加 10^μmol/L ABA预培养亦得出了类似的结果(数字未列).进行超低温保存时,如果材料的含水量过高则极易发生胞内结冰而致死亡^[5],而顽拗性种子不耐脱水,含水量低,必将导致种子(胚轴)死亡^[6].

表 2 梯度蔗糖(或加 ABA)培养对黄皮胚轴活力指数及含水量的影响
Tab. 2 Effect of preculture in the gradient of sucrose(with or without ABA) on vigor index and water content of wampee embryonic axes

处 理	经下列脱水时间后的活力指数					
	0 h	2 h	5 h	8 h	10 h	12 h
对照(未预培养胚轴)	11.1(57.9)	11.8(48.2)	5.0(29.6)	2.1(19.7)	0(18.5)	0
梯度蔗糖预培养	18.2(59.3)	18.8(42.2)	14.2(32.5)	10.5(25.7)	10.5(21.3)	5.0
梯度蔗糖加 ABA预培养	12.8(60.4)	13.5(41.3)	10.4(31.7)	10.0(24.7)	6.5(20.3)	2.0

括号里数字为含水量(12 h时未测定)

本研究则提供了降低胚轴致死含水量的方法. 采用此方法成功地使超低温保存后的胚轴保持生根的能力, 并能诱导出愈伤组织(另文发表), 至于预培养过程发生的生理生化变化及耐脱水性诱导的机理则有待进一步研究.

参 考 文 献

- 1 Leprince O, Hendry G A F, Mckersie B D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research*, 1993(3): 231~ 246
- 2 Blackman S A, Obendorf R L, Leopold A C. Desiccation tolerance in developing seeds. The role of stress protein. *Physiol Plant*, 1995, 93 630~ 638
- 3 Ooms J J J, Vander V R, Karssen C M. Absciscic acid and osmotic stress or slow drying independently induced desiccation tolerance in mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Plant* 1994, 92 506 ~ 510
- 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 简令成. 细胞组织培养物的超低温保存及其种质库的建立. 见: 孙敬三, 桂耀林主编. *植物细胞工程实验技术*. 北京: 科学出版社, 1995. 305~ 339
- 6 傅家瑞. 顽拗性种子. *植物生理学通讯*, 1991, 27(6): 402~ 406

The Induction of Desiccation Tolerance in Wampee (*Clausena lansium* Skeels) Embryonic Axes

Lu Wangjin* Fu Jiarui

Abstract The wampee(*Clausena Lansium* Skeels) embryonic axes were used as experimental materials and the results showed that the vigor index of different developmental stages was increased after precultured by gradient of sucrose and gradient of sucrose with $10\mu\text{mol/L}$ ABA respectively. The lethal water content of physiological-matured embryonic axes declined and the desiccation tolerance successfully increased after precultured by gradient of sucrose and gradient of sucrose with $10\mu\text{mol/L}$ ABA respectively. Preculture with gradient of sucrose was better than that of gradient of sucrose with $10\mu\text{mol/L}$ ABA in the induction of desiccation tolerance.

Keywords Wampee(*Clausena lansium* Skeels), embryonic axes, desiccation tolerance, induction

* School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275