

花生种子萌发早期事件与活力的关系*

黄丽萍** 傅家瑞

(生物学系)

摘 要

花生种子萌发早期,不同活力胚轴的呼吸模式与吸水模式对应一致。吸胀初始活力低的种子吸水快,呼吸强度也高,停滞期后则活力高的种子吸水迅速,呼吸强度亦高。预吸胀处理减轻种子的渗漏,浸泡液的电导率和紫外吸收物质的数值下降,细胞的修复效率与种子活力有关。胚轴的膜脂不饱和度与种子活力亦呈正相关。 Ca^{2+} 与PAs处理可改善膜透性,减少渗漏,增加膜脂不饱和度。

关键词 种子活力,萌发早期,膜透性,膜的修复,花生种子

种子在贮藏过程中发生活力下降的不可逆变化——即老化,其劣变程度或活力水平在种子萌发初期表现明显^[1]。不同活力种子具有不同的生理生化基础,从而决定种子萌发与幼苗生长状态,并影响植株的生产性能及产量^[2]。因此,干种子吸胀初始所发生的事件十分重要。

人们认为贮藏中种子劣变的主要原因之一是膜系统的损害。吸胀则为萌发做好生化合成准备^[3]。 Ca^{2+} 与多胺被认为是膜保护剂,通过与膜蛋白质和膜脂极性头部静电结合,维持双脂层基本结构和膜透性的稳定^[4]。本文着重研究在自然老化条件下,花生种子萌发早期(24h内)膜透性以及其它生理变化与活力的关系, Ca^{2+} 与PAs对膜透性和膜脂组分的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试花生“粤油116”由广东省农科院经作所提供。经过不同贮藏期获得各种不同活力的种子。无活力种子是由中活力种子经 104°C 12h处理而得。

1.2 含水量、发芽率和活力指数的测定

称取一定重量种子放入烘箱,在 105°C 烘至恒重,计算其含水量。

本文1990年3月19日收到

*国家自然科学基金资助项目,高等学校博士学科点专项科研基金资助项目

**现在广东省食品集团冷冻厂

缩写: PAs 多胺, Spm 精胺, Put 腐胺

萌发和活力测定采用直立玻板法。在 $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下发芽，72h后记录种子的发芽率，测量胚根及下胚轴长度（cm），并计算活力指数（活力指数 = 发芽率 × 胚根、下胚轴长度）。

1.3 吸水速率的测定

称取一定重量的种子，经吸胀不同时间后，用滤纸吸干，剥取胚轴称重，绘出吸水速率曲线。

2.4 呼吸强度的测定

用气流法，以QGD-07型红外线 CO_2 分析仪进行测定。将吸胀一定时间的花生胚轴分别剥出，称重后立即放入10ml的标准规格试管中，用反口橡皮塞盖紧，盖瓶前和盖瓶后0.5h分别取1ml气体进行 CO_2 分析。

1.5 电导率及紫外吸收的测定

称取10粒花生种子（6g），放在垫有两层滤纸的 $\phi = 9\text{cm}$ 培养皿中，加入少量蒸馏水，进行不同时间的预吸胀。种子洗净吸干后，放入洁净的50ml烧杯中，以20ml蒸馏水浸泡一定时间，分别用DDS-11型电导仪测定浸泡液的电导率，用751-G型分光光度计测量其264nm的OD值（UV吸收物质）。

1.6 膜脂脂肪酸成分的测定

按照苏维埃等（1980）介绍的方法^[5]，用103型气相层析仪进行测定。

2 实验结果

1.1 不同活力种子的含水量、发芽率及活力指数

经过不同贮藏期的种子，按其发芽率及活力指数分为四类。高活力种子含水量较低，发芽率及活力指数均较高。中活力及低活力种子含水量较高，发芽率及活力指数明显降低（表1）。花生种子的发芽率及活力指数随贮藏期延长而下降，与此同时，含水量却有所增加，而含水量的增加又促进了种子的老化。

表1 不同活力花生种子含水量、发芽率和活力指数
Tab.1 Water content, percent germination and vigour index in peanut seeds with various vigour

种子活力	含水量 (%DW)	发芽率 (%)	生长势 (cm)	活力指数
高活力	5.25	98	2.08	2.03
中活力	6.83	89	0.91	0.81
低活力	6.91	75	0.57	0.43
极低活力	7.30	68	0.44	0.30

2.2 不同活力胚轴的吸水速率

干种子吸胀, 鲜重迅速增加。高、中、低活力种子胚轴的吸水曲线均呈现三阶段的模式。可是, 极低活力种子胚轴的吸水曲线只有两个阶段, 而不出现第2次迅速吸水期(图1)。

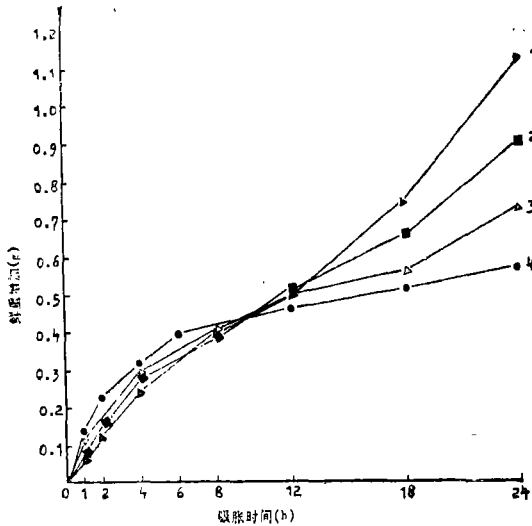


图1 不同活力胚轴的吸水速率
 Fig.1 The imbibition rate of embryonic axes with various vigour
 1. 高活力种子, 2. 中活力种子, 3. 低活力种子, 4. 极低活力种子

从不同活力胚轴的吸水速率曲线可见: 在早期快速吸水阶段(1~8h), 活力越低的胚轴, 鲜重增加越快。反之, 在迟滞期后出现的第2次迅速吸水阶段, 则活力越高的胚轴鲜重增加越快(图1)。总吸水量(鲜重增加)则以高活力胚轴为高。

2.3 不同活力胚轴萌发早期的呼吸模式

胚轴在吸胀过程中呼吸强度的变化与其吸水速率变化的趋势相一致。几种不同活力种子胚轴在吸胀中的呼吸变化均呈现三阶段模式。低活力种子胚轴初始期呼吸强度大于高活力的, 并且较早进入缓慢期(4~8h), 但第2次迅速上升期却趋于缓慢上升状态。反之, 高活力胚轴在第一阶段呼吸强度较低, 但迟滞期不明显, (第二阶段)从吸胀8h后(进入第三阶段)呼吸强度一直较高于中、低活力胚轴。中活力种子胚轴吸胀过程中的呼吸强度变化介于高、低活力种子胚轴之间(图2)。

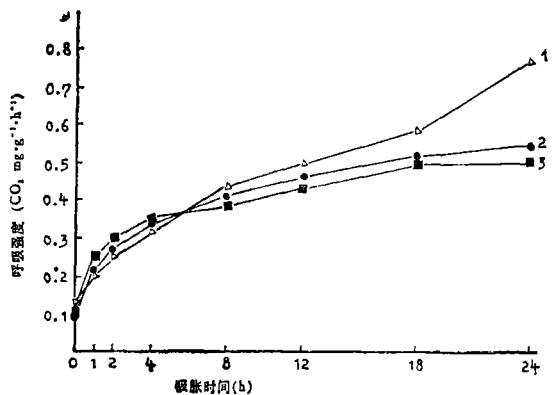


图2 萌发早期不同活力胚轴的呼吸强度
 Fig.2 The respiratory rate of embryonic axes of various vigour during early germination
 1. 高活力种子, 2. 中活力种子, 3. 低活力种子

2.4 不同活力种子的渗漏以及预吸胀的影响

不同活力种子分别经预吸胀处理不同时间后测定它们在2h浸泡中的电解质渗漏情况(图3)。高活力种子经预吸胀8h,其浸液电导率明显减少,12~24h趋于平稳;中活力种子预吸胀12h,浸液电导率亦有较明显的下降。当预吸胀处理时间相同时,活力高的种子电解质渗漏量少,电导率亦较低。死种子的渗漏明显增加,且不规则变化,可见膜透性处于不可逆损伤状态。对活力相同的种子,预吸胀处理时间越长(24h内),其浸液的电导率值则越低。

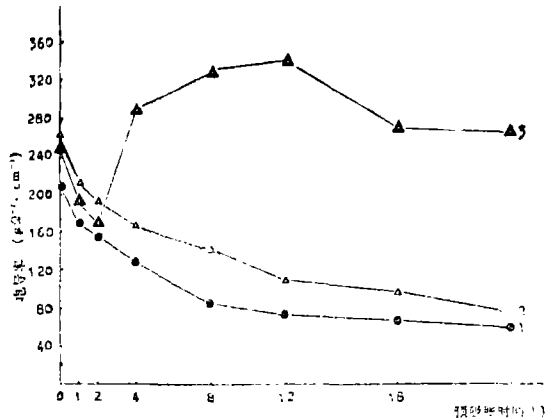


图3 不同活力种子预吸胀后浸出液的电导率
Fig.3 The conductivity of the soaked solution from seeds of various vigour after preimbibition

1.高活力种子 2.中活力种子 3.死种子

对不同活力种子浸泡中渗漏物的紫外吸收物质测定,高活力种子渗漏少于中活力种子。随着预吸胀处理时间延长,它们的渗漏量均明显减少(图4)。高活力种子经预吸胀4h后,浸液中紫外吸收物质的渗漏明显减少,而中活力种子则需预吸胀处理8h后,紫外吸收物质的渗漏才较明显地减少,但其值仍比高活力种子高1倍以上。死种子的渗漏量更多些。紫外吸收物质的测定值与电导率值变化基本一致,与种子活力成反比,同时均受预吸胀的影响,渗漏量下降。

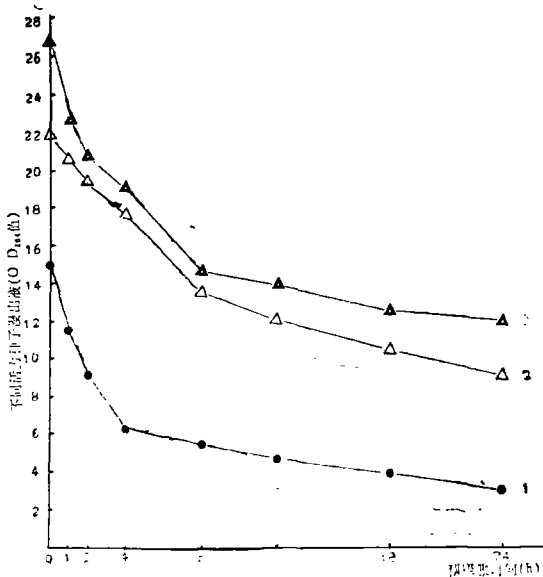


图4 预吸胀后不同活力种子浸出液紫外吸收物的渗漏

Fig.4 The leakage of the UV absorbing substance from seeds with various vigour after preimbibition

1. 高活力种子,
2. 中活力种子,
3. 死种子

2.5 种子活力与膜脂脂肪酸成分的关系

从花生胚轴细胞的膜脂脂肪酸成分,其中包括棕榈酸(16:0)、硬脂酸(18:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)的测定中,得知未吸水的胚轴,不论高活力或中活力种子胚轴,其细胞膜脂脂肪酸的不饱和程度无明显区别,但低活力种子胚轴的膜脂不饱和度却显著地降低。从饱和与不饱和脂肪酸摩尔百分数以及18:2/16:0, 18:3/16:0值中也一致地表明低活力种子胚轴不饱和脂肪酸含量偏低(表2)。萌发24h种子的胚轴能较好地反映出种子活力与膜脂不饱和度的相关性。高、中及低活力胚轴的不饱和脂肪酸含量依次为71.52%, 70.68%和68.67%; 不饱和指数(IUFA)为121.45, 117.63和107.99。18:2/16:0及18:3/16:0也一致表明活力高的种子胚轴膜脂不饱和脂肪酸含量高(表3)。

表2 不同活力风干种子胚轴膜脂脂肪酸成分分析
Tab. 2 The composition of fatty acids in membrane lipids of dry embryonic axes with various vigour

不同活力种子	棕榈酸 (16:0)	硬脂酸 (18:0)	油酸 (18:1)	亚油酸 (18:2)	亚麻酸 (18:3)	IUFA*	18:2/16:0	18:3/16:0
高活力	25.51	1.81	24.85	47.11	0.7220	121.23	1.8467	0.0283
中活力	24.68	2.27	25.03	47.26	0.7500	121.80	1.9149	0.0304
低活力	27.23	2.23	27.89	42.51	0.1365	113.31	1.5611	0.0050

表内百分数字为摩尔数

*IUFA表示脂肪酸不饱和指数: $IUFA = (18:1\text{mole}\%) + (18:2\text{mole}\% \times 2) + (18:3\text{mole}\% \times 3) \times 100$
(表3、4同)

表3 不同活力种子吸胀24小时胚轴膜脂脂肪酸成分分析
Tab. 3 The composition of fatty acids in membrane lipids of embryonic axes from various vigour seeds imbibed water for 24 hours

不同活力种子	棕榈酸 (16:0)	硬脂酸 (18:0)	油酸 (18:1)	亚油酸 (18:2)	亚麻酸 (18:3)	IUFA	18:2/16:0	18:3/16:0
高活力	28.34	0.7220	23.85	46.21	1.7280	121.45	1.6306	0.0609
中活力	28.42	0.9259	24.40	45.16	0.9068	117.63	1.5883	0.0319
低活力	30.36	0.9566	29.69	38.63	0.3483	107.99	1.2724	0.0115

2.6 Ca^{2+} 与PAs对膜透性和膜脂组分的影响

在30mmol/L CaCl_2 , 0.1mmol/L Put或0.05mmol/L Spm溶液中吸胀24h的花生种子比在蒸馏水中吸胀24h的种子,均显示出溶质渗漏减少的效应,电导率与紫外吸收值的测定结果表现一致(图5, 6)。其中 CaCl_2 的作用显著,减少溶质渗漏量约达一倍;其次是Put,再次是Spm,后二者亦有较明显的效果。

表4 CaCl₂、Put、Spm对中活力胚轴膜脂脂肪酸成分的影响
Tab.4 The effect of CaCl₂, Put and Spm on the composition of fatty acids in membrane lipids of medium-vigour embryonic axes

不同处理	棕榈酸 (16:0)	硬脂酸 (18:0)	油酸 (18:1)	亚油酸 (18:2)	亚麻酸 (18:3)	IUFA	18:2/16:0	18:3/16:0
CK	28.16	0.4533	32.76	38.51	0.1133	110.12	1.3674	0.0040
CaCl ₂	26.99	1.0420	27.96	43.95	0.1160	116.21	1.6284	0.0043
Put	27.45	0.9684	26.48	44.96	0.1384	116.81	1.6379	0.0050
Spm	26.71	1.5920	32.37	39.20	0.1206	111.13	1.4676	0.0045

胚轴膜脂脂肪酸成分分析结果表明,中活力花生种子在30mol/L CaCl₂, 0.1mol/L Put和0.05mol/L Spm 溶液中吸胀24h与在蒸馏水中吸胀24h对比,均有提高膜脂脂肪酸不饱和度的效应(表4)。用CaCl₂、Put和Spm处理种子后,胚轴膜脂IUFA值比对照分别提高了6.0871, 6.6943和1.0109; 18:2/16:0值分别提高了19.09%、19.78%和7.32%; 18:3/16:0值分别提高了37.5%, 25.0%和12.5%。

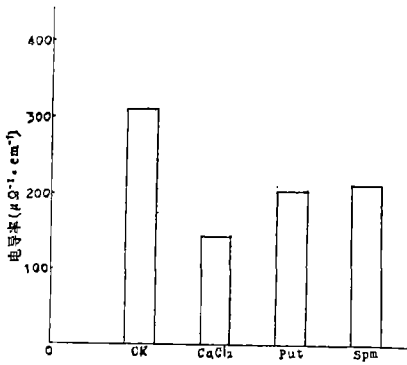


图5 CaCl₂, Put, Spm对电解质渗漏的影响
Fig.5 The effect of CaCl₂, Put and Spm on the leakage of electrolytes

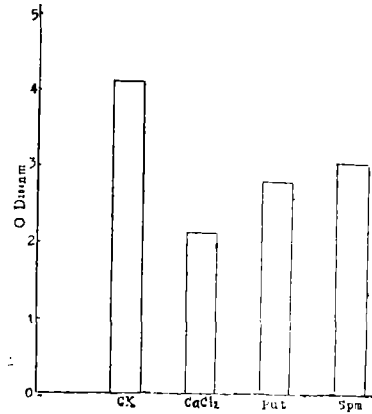


图6 CaCl₂, Put, Spm对紫外吸收物渗漏的影响
Fig.6 The effect of CaCl₂, Put and Spm on the leakage of UV absorbing substances

3 讨论

萌发早期的最基本事件应是从吸胀开始和以呼吸提高为特征。实验表明不同活力花生种子胚轴的呼吸模式一致地呈现有规律的三阶段模式(图2),并对应于其吸水模式(图1)。在吸胀初期,活力低的种子或胚轴吸水速率快,呼吸强度也高,此阶段大概即是线粒体发育的所谓第一阶段,是水分诱导的发酵呼吸^[6]。经吸水和呼吸的平缓期后,活力高的种子吸水快,呼吸强度也高,这可能即是Bewley(1985)认为的电子传递

的活化引起的第二阶段线粒体的发育时期,这一阶段呼吸的上升才是由于单个细胞呼吸与细胞分裂有关的能力增强引起的^[6]。线粒体呼吸能力的缓慢上升和呼吸途径的改变可能是低活力种子萌发的限制因素。

许多研究表明,细胞内含物尤其是电解质渗漏数量与种子活力、幼苗活力成负相关^[4,7]。264nm紫外吸收法是描述种子细胞膜受损伤发生渗漏的指标^[8]。我们的实验证明应用种子浸泡液紫外物质增加与电导率增大两种方法测得的值相关甚高,其中以紫外吸收法测得的结果较稳定。紫外吸收物与电解质渗漏量均与种子活力呈正相关(图3,4)。

种子贮藏过程中由于劣变引起膜损伤,这种“脆弱”的膜会因吸水初期水分的迅速进入细胞而造成严重的破坏^[9]。水分进入过快,一些磷脂分子可能被冲离原位以至膜将不能重建,保留断碎状态^[10,11]。缓慢吸胀的种子,渗漏减轻^[1,12]。我们的试验亦表明,经过预吸胀(缓慢吸水)的种子,由于初始时较慢的水分进入,有利于膜的修复。在吸胀初始高活力种子吸水较慢(图1),这也许是它的膜透性较小,渗漏较少(图3,4),膜修复较快的一个原因。预吸胀处理对死种子电解质渗漏无规律可循(图3),这与种子膜完整性已达到不可修复的损伤程度有关。

Simon提出膜修复假说^[10,11],认为质膜结构维持稳定至少需要20%的水分,只有当种子达到一定含水量时,膜完整性才得以修复,此修复期长短决定了渗漏持续期的长短。高活力花生种子预吸胀4h,含水量约22%时渗漏有所减少,预吸胀8~12h,含水量约为35~40%时溶质渗漏已减少至一恒值,表明修复已基本完成。活力低的种子细胞修复效率低,修复所需时间也较长(图3,4)。

脂类过氧化被认为是劣变的一种机理,增加膜透性^[13,14],导致质子梯度破坏,使呼吸解偶联^[15]。Wilson(1986)指出许多种子表现高的脂氧化酶活性,且种子脂类池中很少部分过氧化(特别是油类种子中)就能引起显著损伤^[16]。我们的实验表明风干种子在活力相差较大时,在胚轴膜脂脂肪酸配比上才有明显表现(表2),可是吸水萌发24h后,种子活力与其胚轴膜脂不饱和度成正相关性(表3)。具有抗衰老效应的钙和多胺被认为可使膜稳定^[5,17]。用CaCl₂, Put, Spm处理中活力花生种子,可减少其浸泡液电解质和紫外吸收物质的渗漏量(图5,6),提高其胚轴膜脂不饱和度(表4)。这些结果支持了脂类过氧化是种子劣变机理的假说。用抗氧化剂可防止衰老,提高种子活力^[18]。通过遗传育种提高种子膜脂脂肪酸不饱和度,以增强对劣变和逆境抗性的实践是可行的。

参 考 文 献

- [1] Simon E W, Early events in germination, In: *Seed Physiology* (D R Marray ed.), Academic Press, 1984, pp. 73~111
- [2] 傅家瑞, 种子生理学, 科学出版社, 北京, 1985, pp. 66~70
- [3] Villiers T A, Ultrastructural changes in seed dormancy and senescence, In: *Senescence in Plant* (K V Thimann ed.), CRC Press, Boca Raton, 1980, pp. 40~60
- [4] Roberts D R, et al., *Plant Cell Physiol.*, 25 (1984), 315~322.
- [5] 苏维埃等, 植物生理学通讯, 1980, 3, 54~60

- [6] Bewley J D et al., *Seeds—Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York, 1985, pp: 101~139
- [7] Simon E W, *J. Exp. Bot.*, 23 (1972), 1076~1079
- [8] Pollock B M, *Plant Physiol.*, 44 (1969), 907~911
- [9] 谢田、徐中际, 植物生理学通讯, 1986, 1, 45~46
- [10] Simon E W, *New Phytol.*, 73 (1974), 377~420
- [11] Simon E W, Membranes in dry and imbibing seeds. In: *Dry biological systems* (J. H. Crowe and J. S. Clegg, eds.), Academic Press, N Y, 1978, pp. 205~224
- [12] 陈光仪, 种子, 1986, 1, 1~5
- [13] Amz hud B et al., *Plant Physiol.*, 69 (1982), 296~299
- [14] Stewart R C et al., *Plant Physiol.*, 65 (1980), 245~248
- [15] Linnane S W et al., Biogenesis of the yeast mitochondrial membranes, In: "Membrane biogenesis" (A. Tzagoloff, ed.), Plenum Press, N Y, 1975, pp. 113~116
- [16] Wilson D O Jr et al., *Seed Sci. Technol.*, 14 (1986), 269~300
- [17] Legge K L et al., *Plant Cell Physiol.*, 23 (1982), 161~169
- [18] 陈光仪、傅家瑞, 中山大学学报(自然科学版), 1986, 3, 69~75

Early Events in Germinating Peanut Seeds in Relation to the Vigour

Huang Liping Fu Jiarui*

Abstract

The pattern of respiration was in accordance with the pattern of imbibition in embryonic axes of various vigor of seeds during the early germination. In the first stage of imbibition, the lower [the seed vigour was, the faster the water inflow was, and the higher its respiration was; but it was different following a lag phase, the water uptake and respiration rate in seeds with high vigour were superior to those in low-vigour seeds. Seed vigour was negatively correlated to the leakiness of electrolyte (by conductivity test) and UV absorbing substances. Preimbibition increased the effectiveness of restoring cell membrane integrity with the decrease of conductivity and UV absorption value. Seed vigour was positively correlated to the degree of unsaturation of membranal fatty acids in the axes. With the treatments of Ca^{2+} and PAs the membrane permeability was improved, and the leakage was decreased, and the degree of unsaturation of membranal fatty acids was increased.

Keywords seed vigour, early germination, membrane permeability, membrane repair, peanut seed

• Department of Biology