

花生种子活力与乙烯释放

黄学林 傅家瑞

(生物学系)

摘 要

本文研究了花生种子萌发时乙烯释放的规律以及一些化合物(BA、GA₃、IAA、ACC、B₉)对种子乙烯释放的影响。讨论了种子活力与其乙烯释放能力的关系、提高种子活力的可能途径。实验表明,种子活力与其乙烯释放能力呈正相关,GA₃和ACC,特别是ACC能提高种子活力及其乙烯释放能力。

花生在贮藏过程中活力容易下降,特别是广东的春植留种花生,翌春播种出苗率较低。如何提高种子活力、增加出苗率是生产上急需解决的问题。前人的工作表明^[6,8],花生种子活力与其萌发时乙烯释放能力相关。本文着重研究了花生种子活力与乙烯释放的关系,以及花生萌发时一些化合物对乙烯释放及种子活力的影响,并从中探讨提高种子活力的方法与途径。

材 料 和 方 法

1. 试验材料

供试品种为春植粤油551—6花生种子(*Arachis hypogaea* L. Yue You 551-6),由广州市农业科学研究所提供。高活力种子:将晒干的新鲜种子密封于17—23℃的条件下贮藏10个月。中等活力种子:新鲜种子置干燥器(内放饱和MgCl₂溶液,调节相对湿度32%)在室温中贮藏10个月。低活力种子:用高活力种子转贮于相对湿度75%(NaCl饱和溶液)的干燥器内室温5个月。在有些实验中,直接采用新鲜种子。

乙烯气体纯度为99.9%,由中山大学高分子化学研究所提供。

2. 种子活力测定

按Ketring等的方法^[7],称取一定量的精选种子,用1%次氯酸钠溶液表面消毒后,在30±2℃下进行萌发。萌发84小时后,计算它们的发芽率,测量每颗种子的胚根下胚轴长度(以厘米表示),参照Ketring等^[6]方法统计胚根下胚轴超过2cm的种子

本文1982年12月收到

的百分数,作为活力指标之一;另外参照傅家瑞等^[3]方法将种子发芽率 \times 胚根下胚轴长度(即生长势)作为活力指标之二。一般每次试验重复三次,各用35或45个种子。

3. 乙烯的测定

应用100型气相层析仪测定乙烯,参考Ketring、丁静等的方法^[7,11]。用经1.5%阿匹松氯仿溶液处理的中性氧化铝(60—80目)装柱,柱长1米,氢氮检测,氮气为载气(1.2Kg/cm²),柱温82°C。检测室温度为120°C,进样气体量为1ml。用外标法进行乙烯定量测定。

从浸种后8小时起将瓶密塞,到浸种后12小时用注射器抽取瓶中气体1ml,进行分析。取样后用通气法更换瓶内气体,此后每隔12小时如法取样,共7次,瓶子用胶塞密封的时间是在每12小时间隔的后4小时,其余时间塞以棉花,以利气体交换,操作过程防止种子染菌。

4. 各种化合物处理种子的方法

取给定浓度的各种化合物溶液20ml(35—40颗种子)浸12小时,然后倒去多余溶液,定时定量补加水以维持种子的湿润。

实 验 结 果

1. 花生种子活力及其乙烯释放

为了确定衡量种子活力的指标,对用同一种人工老化法处理的种子,分别按Ketring等^[6]方法和傅家瑞等^[3]的方法进行活力测定的预备实验,并且比较了这两种活力指标所反映的活力等级。结果表明,它们是相互一致的,但傅家瑞等^[3]的方法能较多地联系到活力有关的因素。因此以下的种子活力指标都是基本按傅家瑞等方法进行测定。实验所用的种子活力高低等级依次是:新鲜种子>高活力种子>中等活力种子>低活力种子。

种子活力与乙烯释放的关系见表1和图1。高活力种子从浸种后8—12小时起开始释放乙烯,到20—24小时出现一个特征性的乙烯释放高峰,随后逐渐降低。中等活力的种子整个萌发过程中的乙烯释放模式与高活力种子相似。它们的差别在于乙烯释放量的不同,它们在萌发初期和特征性乙烯释放高峰期的乙烯释放量均相差3倍多。低活力种子直到浸种后44—48小时才释放少量的乙烯,而且不出现特征性的乙烯释放高峰,其模式发生了改变。可见不同活力的种子在萌发过程中乙烯释放不仅有量上的差异,而且也有模式上的差异。表2则表明,浸种后8—12小时的乙烯释放量直接与此时的种子萌动数有关。这些结果都说明,花生种子的活力与内源乙烯的释放有着密切的关系。

略语表: ABA: (abscisic acid)脱落酸; ACC: (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) 1-氨基环丙羧酸; BA: (6-benzyladenine) 6-苄基腺嘌呤; B₉: (Alar, SADH)比久, N-二甲胺基琥珀酰胺酸; GA₃: (gibberellic acid)赤霉素; IAA: (indole-3-acetic acid)吲哚乙酸。

表1 花生种子的活力指标

	高活力种子	中等活力种子	低活力种子
发芽率* %	100	90	49
生长势 (cm)	3.4±1.3	2.1±1.1	0.3±0.0
活力指标	3.4	1.9	0.1

● 胚根下胚轴长度超过0.2cm的种子为发芽(下同)

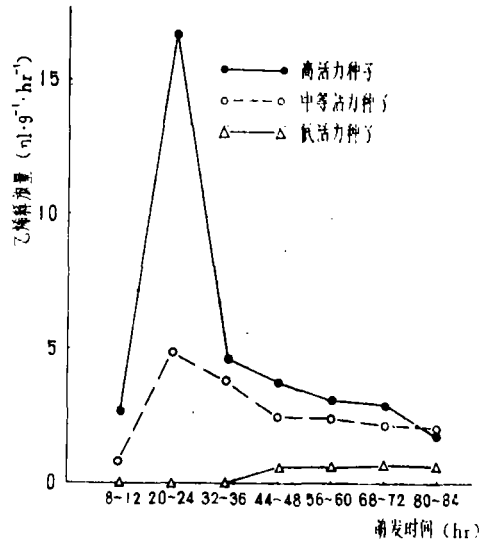


图1 不同活力的花生种子萌发时乙烯释放量

● g为浸种前种子自然干燥的重量(下同)

表2 乙烯释放量与种子萌动数

种子活力等级	乙烯释放量 (nl·g ⁻¹ ·hr ⁻¹)	种子萌动数● (%)
新鲜种子	6.8±0.8	100
高活力种子	2.8±1.0	89
中等活力种子	0.8±0.0	62
低活力种子	0	0

● 胚根刚好突破种皮的种子

2. 花生种子萌发时一些化合物对乙烯释放及种子活力的影响

(1) GA₃和BA的影响

如图2和表3所示, GA₃能促进种子萌发过程中的乙烯释放, 其中0.5mM GA₃对浸种后20—24小时的乙烯释放促进作用较1mMGA₃的大, 而且能保持乙烯释放的正常模式。BA对浸种后32小时的乙烯释放有较明显的促进作用, 而对萌发初期(浸种后8—24小时)的乙烯释放促进作用不大(0.05mM BA), 甚至起抑制作用(0.5mM BA)。BA浸种, 使种子乙烯释放的模式发生改变, 将特征性的乙烯释放高峰由浸种后20—24小时推移到32—36小时(0.05mM BA), 甚至延续到44—48小时(0.5mM BA)。

GA₃浸种可提高种子的活力, 其中以0.5mM GA₃的作用较大; 而BA浸种却降低了种子的活力, 浓度升高增强了这一降低作用(见表3)。

经BA浸种后的种子与GA₃相比子叶较肥厚, 鲜重较重(见照片中之4)。

(2) ACC的影响

表3 GA₃、BA对花生种子活力的影响

处理 项目	对 照	1mM GA ₃	0.5mM GA ₃	0.5mM BA	0.05mM BA
发芽率(%)	90	92	94	88	91
生长势(cm)	2.1	2.2	2.5	1.1	1.7
活力指标	1.9	2.0	2.4	0.9	1.6

在花生种子萌发过程中 ACC 明显地促进乙烯的释放, 其中高浓度(1mM)ACC 的促进作用更为显著。它使种子在浸种后20—24小时的乙烯释放量比对照增加了近四倍(图3), 但也使乙烯释放模式发生了改变, 特征性的乙烯释放高峰由浸种20—24小时延迟到32—36小时。0.1mM ACC 是在保持正常的乙烯释放模式基础上促进种子的乙烯释放。

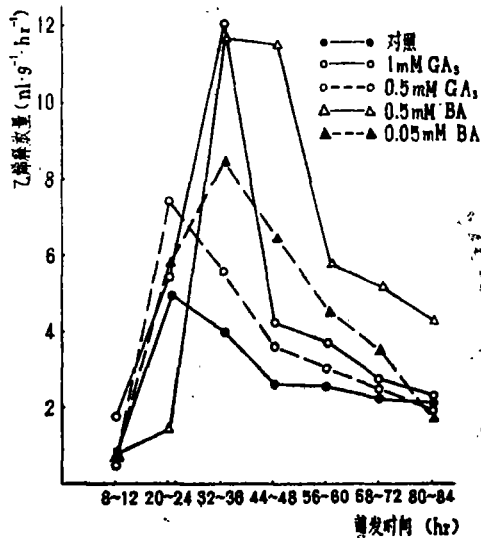
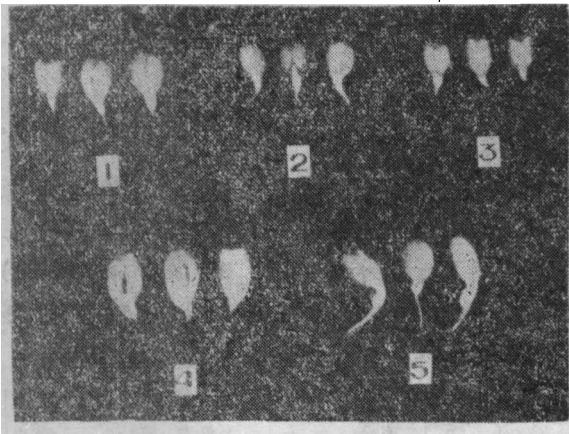


图2 花生种子萌发时GA₃、BA对乙烯释放的影响



照片: 一些化合物浸种后, 花生种子萌发84小时后的生长状态

1. 对照;
2. 0.5mM GA₃ (处理后子叶鲜重 106克/100颗);
3. 2000ppm B₉;
4. 0.5mM BA (处理后子叶鲜重 116克/100颗);
5. 0.1mM ACC.

虽然1mM ACC使种子的乙烯释放量显著地增多了, 但对提高种子活力的效果却稍逊于0.1mM ACC(见表4),

表4 ACC对花生种子活力的影响

处理 项目	对 照	0.1mM ACC	1mM ACC
发芽率(%)	88	94	92
生长势(cm)	2.2±1.6	2.7±1.6	2.5±1.7
活力指标*	1.9	2.5	2.3

(3) B₉的影响

如表5、6和图4、5所示,不管是低浓度(250ppm、500ppm)还是高浓度(2000ppm)的B₉都抑制乙烯的释放。其中250ppm B₉尚能维持乙烯释放的正常模式(见图4),其余的浓度都使乙烯释放模式发生了改变(见图4和图5)。2000ppm B₉明显地推迟了乙烯开始释放的时间,直到浸种后44—48小时才出现乙烯释放高峰。1mM GA₃可使2000ppm B₉的抑制作用加强。

B₉抑制花生种子的萌发,降低种子的活力,并且这一作用随着浓度升高而增加(见表5,表6)。2000ppm B₉浸种后的种子发芽迟缓,萌发84小时后,个体瘦小(见照片中之3),活力指标与对照相比降低了近三分之二,如加入1mM GA₃使种子活力更为降低,这与它对乙烯释放的影响是相一致的。GA₃对B₉的这种增效作用的原因还不清楚。

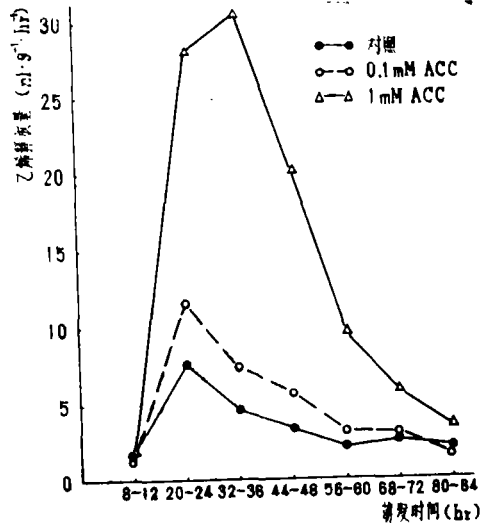


图3 花生种子萌发时ACC对乙烯释放的影响

表5 B₉对花生种子活力的影响(1)

处理 项目	对 照	500ppm B ₉	250ppm B ₉
发芽率(%)	88	91	88
生长势(cm)	2.2±1.6	1.4±0.9	1.7±0.9
活力指标	1.9	1.3	1.5

表6 B₉对花生种子活力的影响(2)

处理 项目	对 照	2000ppm B ₉	2000ppm B ₉ +1mM GA ₃
发芽率(%)	90	78	50
生长势(cm)	2.0±1.3	0.8±0.7	0.3±0.0
活力指标*	1.8	0.6	0.2

● 本实验的种子是在相对湿度45%下贮藏10个月,

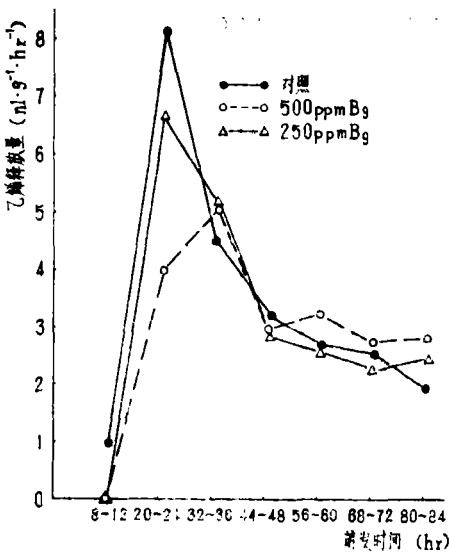


图4 花生种子萌发时B₉对乙烯释放的影响(1)

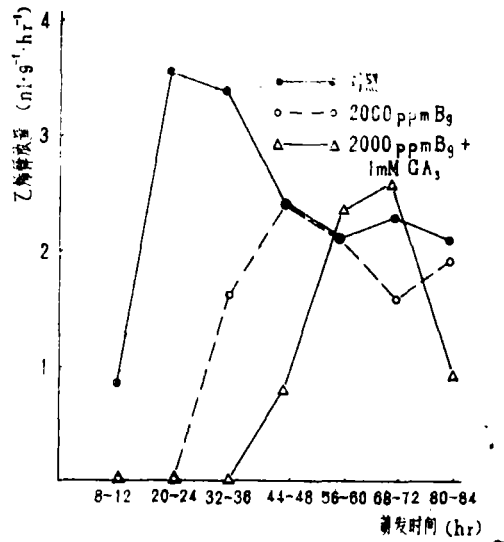


图5 花生种子萌发时B₉对乙烯释放的影响(2)

(4) IAA的影响

由图6和表7可见,10⁻³M IAA和0.5×10⁻³M IAA均抑制花生种子在萌发过程中的乙烯释放,并降低种子活力。10⁻³ IAA浸种后直到44小时种子才释放少量乙烯(只相当于对照的1/3乙烯量),发芽率几乎降低了一半。活力指标只有对照的1/10。

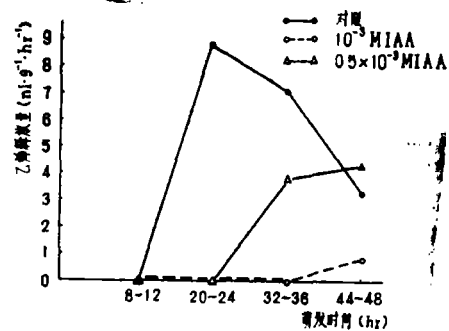


图6 花生种子萌发时IAA对乙烯释放的影响

表7 IAA对花生种子活力的影响

	对 照	0.5×10 ⁻³ M IAA	10 ⁻³ M IAA
发芽率(%)	91	80	47
生长势(cm)	1.1±0.7	0.5±0.4	0.3±0.1
活力指标	1.0	0.4	0.1

讨 论

健壮的种子在萌发过程中所释放的乙烯往往与时间进程存在一定关系,这种关系我们称为乙烯释放模式。在我们的实验条件下花生(粤油551-6)种子的乙烯释放模式是:浸种后8-12小时释放一定量的乙烯,到20-24小时出现一个特征性的乙烯释放高

峰,随后则逐渐降低到一定的水平。其它一些种子萌发中的乙烯释放模式也已有报导^(8,9,10)。实验证明乙烯释放模式反映乙烯在特定阶段中所起的作用。因此,当种子活力发生显著变化时必然引起乙烯释放模式的改变,中等活力种子的乙烯释放模式与高活力种子的相似,这说明中等活力的种子老化尚不严重;而低活力花生种子特征性的乙烯释放高峰消失,表明种子老化严重,近乎死亡。

种子活力的变化不仅反映在乙烯释放的模式上而且也反映在乙烯释放的数量上;种子活力变化较小时主要反映在数量上。Ketring⁽¹¹⁾报导,多数高活力的花生种子在萌发24小时便出现一个乙烯释放高峰,经过贮藏而活力降低的种子,则该高峰期推迟,幅度减弱。如果种子在萌发24小时的乙烯释放量低于7nl克鲜重⁻¹·小时⁻¹,种子活力便显著降低。同样,这种乙烯释放量的变化也发现于油菜籽萌发中⁽¹⁰⁾。由此看来花生种子在吸水20—24小时是处于萌发的关键时期,此时的乙烯释放量是一个阈值,反映着种子活跃的代谢活动。此外,我们的实验还证明了种子萌发初期(浸种8—12小时)的乙烯释放量与种子萌动(露白)数量相关。活力高的种子萌发初期释放乙烯量较大(见表2)。

Ketring等⁽⁶⁾在对3个花生品种进行不同地区、不同生长季节的活力比较研究后,得出了乙烯释放量与活力的回归方程,同时也发现一批高活力种子,它的特征性的乙烯释放高峰出现在萌发21小时。而一批低活力种子的特征性乙烯释放高峰从萌发21小时推迟到萌发45小时。一批中等活力的种子在萌发第21小时,乙烯释放量减少约50%。我们的实验与这些结果相似。因此在一般情况下,把乙烯释放状况作为花生种子活力的参考指标是可行的。

上面的事实说明,乙烯的产生能力反映着花生种子的活力。有没有可能通过调控乙烯的释放来提高种子的活力?我们的实验结果说明用一些化合物(GA₃、BA、ACC、B₉、IAA)作浸种处理,可影响种子萌发过程的乙烯释放,同时,也影响种子的活力。这些化合物对乙烯释放和种子活力的影响归纳起来有如下三种类型,如表8所示。

(1)促进乙烯释放与提高种子活力,两者呈正相关的关系。其中如能使乙烯释放模式保持不变者,则提高种子活力的作用大(如0.1mM ACC和0.5mM GA₃),如果它改变了乙烯释放的模式,则提高种子活力的作用小(如1mM GA₃和1mM ACC)。

(2)抑制乙烯释放,降低种子的活力(如三种浓度的B₉和两种浓度的IAA)。这种抑制作用随着化合物的浓度升高而增强。如果它抑制乙烯释放的结果不致改变乙烯释放的模式,则对种子活力的降低作用较为缓和(如:250ppm的B₉)。

(3)对乙烯释放及活力影响的关系复杂。如BA的作用,它对浸种32小时后的种子乙烯释放有较大的促进作用,但也改变了特征性的乙烯释放高峰的位置。它不但没有提高种子的活力,反而显示降低的作用。

从上可知,尽管GA₃、ACC和BA在一定程度上同样促进种子萌发过程中的乙烯释放;甚至同样改变了特征性乙烯释放高峰出现时间,但BA对种子活力的作用不同于GA₃和ACC。一些实验证明BA在种子萌发中的作用部位不同于GA₃^(12,13)。我们的实验也证明,经BA浸种处理后的种子子叶较为肥厚,鲜重增加(见照片1之4)。花生种子释放乙烯的主要部位是胚部分⁽⁷⁾。非休眠的花生种子要获得高的活力指标,除了获得较高的发芽率之外,还要获得较高的生长势。BA虽能促进乙烯释放,但由于它的主

要作用部位可能在子叶上,因此对提高活力指标贡献不大,这可能是主要原因。而它降低种子活力作用,也许与其所用的浓度过高有关。傅家瑞^[2]指出0.5mM BA的浓度已起到抑制莠苳种子萌发的作用。

表8 花生种子萌发时一些化合物对乙烯释放及种子活力的作用

化合物 作用分类	促进乙烯释放和提高活力				对乙烯释放和活 力影响关系复杂		抑制乙烯释放和降 低活力**		
	0.5mM GA ₃	0.1mM ACC	1mM ACC	1mM GA ₃	0.5mM BA	0.05mM BA	2000ppm B ₉	500ppm B ₉	250ppm B ₉
处 理									
乙烯释放 模 式	正常	正常	变化	变化	变化	变化	变化	变化	正常
乙烯量增加的 百分数* (%)	48	52	266	8	-70	18	-100	-51	-18
活力提高的 百分数(%)	26	32	21	5	-53	-16	-67	-32	-21

• 乙烯量增加的百分数按下式求得:

$$\frac{A-B}{B} \times \% \quad A: \text{用化合物浸种后20—24小时乙烯释放量};$$

B: 对照(水浸种后)20—24小时乙烯释放量。

活力提高百分数按下式求得:

$$\frac{A'-B'}{B'} \times \% \quad A': \text{用化合物浸种后,种子萌发84小时的活力指标};$$

B': 对照(水浸种后)种子萌发84小时的活力指标。

•• 10^{-3} M IAA, 0.5×10^{-3} M IAA 也包括在这类型中。

高浓度的GA₃、ACC对提高种子活力的作用还不如低浓度的,这可能是高浓度的GA₃和ACC使种子产生了超适量的乙烯,从而对种子的萌发呈抑制作用。例如用高浓度的GA₃与ACC处理种子使32—36小时乙烯释放量大为增加,分别比对照的增加了140%和297%。关于超适量的乙烯抑制莠苳种子的萌发和抑止水稻、蕃茄等幼根伸生长已有报导^[14,15]。

前人的工作已经表明IAA和乙烯产生的关系颇为密切^[4]。IAA能促进种子萌发^[16]和促进种子器官(胚轴、子叶)的切段产生乙烯^[13]。但在我们的实验中,IAA不能促进种子释放乙烯、不能提高种子的活力,这可能是使用的浓度及材料(整个种子而非切段)不同所致。

关于B₉与乙烯产生的关系,据Looney报导,B₉能抑制后熟苹果的乙烯产生^[17]。Ketring和Morgan指出,B₉不诱导休眠型花生种子的萌发及乙烯释放^[11]。由于B₉是生长延缓剂,因此对花生种子的萌发起不到促进作用。

ACC在促进花生种子乙烯释放及提高活力方面的作用是比较显著的。ACC是乙烯生物合成的中间体,它可直接转变为乙烯^[18]。Yu等^[19]发现用0.2和1mM ACC处理

离体绿豆的下胚轴,可使乙烯产生量分别增加200倍和1000倍。ACC处理莴苣种子也可促进乙烯产生和打破热休眠^[2]。可以预料用ACC处理中等老化的种子可提高其发芽率和改善田间幼苗的生长。

综上所述,一个能提高种子活力的化合物,它是在不改变乙烯释放模式的基础上增加乙烯释放量。对同一个化合物,其浓度是关键。非休眠型的花生种子萌发时乙烯释放有两个临界时间,一是在种子萌动期,另一个是在浸种后20—24小时(即特征性的乙烯释放高峰期)。高活力种子在这两个时间的乙烯释放量大,因而提高这两个时间里的乙烯释放量,对提高种子活力是重要的。

参 考 文 献

- [1] 丁静等,棉花幼铃发育过程中内源激素水平的变化及赤霉素对它的影响,植物生理学报, 1980, 4, 407—417.
- [2] 傅家瑞,莴苣种子的热休眠与乙烯及ACC的关系,中国植物生理学会第三届年会会刊, 1982.
- [3] 傅家瑞等,花生种子活力研究(摘要),花生科技, 1980, 2, 23—24.
- [4] 下川敬之,エチレン生理・生化学(10),农业および园艺, 54(1979), 1, 86—88.
- [5] Ketring, D.L., Morgan, P.W., Powell, R.D.,
In: Plant Growth Substance, 1973, 891-899, Hirokawa publishing company
Inc. Tokyo (1974).
- [6] Ketring, D.L., Simpson, C. E., Smith, O.D., *Crop Sci.*, 18(1978), 409-413.
- [7] Ketring, D.L., Morgan, P. W., *Plant Physiol.*, 44(1969), 326-330.
- [8] Meherik, M., Spencer, M., *Can. J. Bot.*, 42(1964), 337-340.
- [9] Spencer, M., Olson, A.O., *Nature*, 205(1965), 699-700.
- [10] Takayanagi, K., Harrington, J.F., *Plant Physiol.*, 47(1971), 521-524.
- [11] Ketring, D.L., Morgam, P. M., *Plant Physiol.*, 47(1971), 488—492.
- [12] Ikuma, H., Thimann, K. U., *Plant cell Physiol.*, 4(1963), 113-128.
- [13] Esashi, Y., Katoh, H., Leopold, A.C., *Plant Physiol.*, 59(1977), 117-121.
- [14] Chowdhuri, B., Chatterjee, S.K., *Sci. Cult.*, 37(1971), 34-35.
- [15] Konings, H., Jackson, M. B., *Z.Pflanzenphysiol.*, 92 (1979), 5, 385-398,
- [16] Mayer, A.M., Projekoff-mayber, A., *The Germination of Seeds*, p97-98.
Pregamon Press, New York, 1963.
- [17] Lonney, N. E., *Plant Physiol.*, 44(1969), 1127-1131.
- [18] Yang, S.F., Adams, D.O., Biosynthesis of ethylene, In: *Biochemistry of
Plants*, Stumpf(ed.) vol. 4, p. 169-172, Academic Press, Inc., 1980.
- [19] Yu, Y.-B., Adams, D.O., Yang, S.F., *Plant Physiol.*, 63(1979), 589-590.

The Vigor of Peanut Seed and Release of Ethylene

Huang Xuelin Fu Jiarui

Abstract

Non-dormant peanut seeds (*Arachis hypogaea* L., Yue You 551-6) were found to produce ethylene during germination. Vigorous seeds released some ethylene at 8-12 hr after imbibition, they had a characteristic peak of ethylene releasing at 20-24 hr after imbibition.

Seeds with high vigor not only released a large quantity of ethylene but also had a unique pattern of ethylene release. However, ethylene released from low vigor seeds was delayed and reduced, even the peak disappeared and the normal pattern was changed. Therefore, the vigor of the seeds could be correlated with the amount and the pattern of releasing ethylene.

Ethylene released by the seeds was enhanced to different extents by treatments with 0.5mM 1mM GA_3 , 0.1mM 1mM ACC(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid), and 0.5mM 0.05mM BA. However, the vigor of the seeds was only improved by GA_3 and ACC. The best of them was 0.1mM ACC. In contrast to GA_3 and ACC, BA was found to diminish the vigor.

Ethylene releasing was inhibited and the vigor was decreased when $10^{-3}M$, $0.5 \times 10^{-3} M$ IAA and 2000ppm, 500ppm, 250ppm B₉ were used in soaking the seeds. The inhibition became stronger as the concentration of the compounds was increased. If the releasing pattern of ethylene was not changed by treatment with the above chemicals except BA, their improving or diminishing effects on the vigor of the seeds were positively correlated to the enhancing or reducing amount of ethylene releasing, and the effects were dependent on the concentration of the compounds.