

干旱锻炼对小麦种子萌发期贮藏物水解的影响

THE EFFECT OF PRESOWING DROUGHT HARDENING ON THE RESERVE HYDROLYSIS OF WHEAT SEEDS DURING GERMINATION

徐恒平 袁秀林

(基础课部)

Xu Hengping Yuan Xiulin

(Basic Courses Department)

关键词: 干旱锻炼; 贮藏物水解; 小麦种子

Key words: presowing drought hardening; reserve hydrolysis; wheat seeds

种子干旱锻炼是提高植物抗旱性和旱农生产的生理措施之一。自1934年金杰里等报道了有关实验^[1]以来,许多学者对这一课题进行了研究结果表明:播前干湿处理使种子萌发提前^[2];经干旱锻炼的小麦种子在土壤干旱条件下,仍能保持较高的萌发能力^[3];锻炼的小麦种子淀粉酶活性高于对照,可溶糖与可溶氮含量增加^[4]。但是,这些测定都局限于种子发芽之前,对于萌发期种子贮藏物水解的动态则研究很少。而且,有人认为,若计入播前吸胀时间,则锻炼的种子发芽时间与对照相比较并无变化。上述有关代谢变化未必较对照是一种改善^[5]。由此可见,有必要分析经锻炼的种子贮藏物水解等方面的变化,以探讨干旱锻炼对种子萌发有无实质影响。

1 材料和方法

1.1 供试种子

选用旱地品种丰抗13号和水地品种运城78—2。种子经手选后,采用金杰里的方法^[6]进行锻炼。

1.2 测定方法

(1)淀粉及可溶糖含量:从发芽0, 12, 36, 60, 96h的种子剥取胚乳部分,各称0.1g,用蒽酮法测定。

(2)糊粉层细胞质壁分离:分别从发芽30h和40h的种子,剥离糊粉层,在种脊部位剪取约0.2mm²,经染色、脱色,浸入0.1M蔗糖溶液3~5min后,镜检,记录其出现质壁分离所需的时间。

(3)淀粉酶活性:以碘液染色法测定。采样(同(1))后,加醋酸缓冲液(0.1M,

本文于1988年11月15日收到。

pH6.0) 研磨、离心 (3500×g, 10min), 将上清液分作两份, 分别用于测定总淀粉酶活性与 α -淀粉酶活性。酶活性以水解淀粉 $\text{mg} \cdot (\text{g干样})^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 表示。

(4) 蛋白酶活性及蛋白氮含量: 用克氏自动定氮法。取发芽 0, 12, 36, 60h 的种子胚乳部分 0.4g, 平分为二, 各加磷酸缓冲液 (0.02M, pH7.5) 研磨, 分别作反应项与对照项。对照项用三氯乙酸 (5%) 酸解, 经过滤、消化残渣, 用自动定氮仪 (1030型) 测定蛋白氮含量 (占样品鲜重%); 反应项经保温 (37°C, 20h) 后, 加三氯乙酸终止反应, 测定蛋白氮含量。根据二项蛋白氮含量之差, 计算蛋白酶活性, 以水解蛋白氮 $\mu\text{g} \cdot (\text{g蛋白})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示。

(5) ATP含量变化: 用发光光度计法。取发芽 0, 12, 36, 60, 96h 的种子各 10粒, 剥取胚乳部分, 分别称重, 移入试管, 加 5ml 丙酮于沸水浴中煮沸 5min, 加 5ml 蒸馏水煮沸 10min; 以 Tris 缓冲液 (0.02M, pH7.8) 稀释 5 倍, 取 0.2ml 于反应管, 与 0.8ml 荧光素酶液 (3mg/ml, 酶制剂由上海植生所提供) 混合, 用 LKB-1250 型发光光度计测定 mv 值, 以 mv/g 干样表示 ATP 含量的相对值。

2 结果与讨论

2.1 淀粉的水解及可溶糖含量

结果表明^[1], 两个品种锻炼处理含糖量的变化趋势基本一致。种子发芽开始之前, 锻炼处理的可溶糖含量高于对照, 而淀粉含量低于对照, 说明经锻炼的种子在发芽之前已有一定量的淀粉被水解。这种差异在发芽 12h 前进一步增大, 但在 12h 后逐渐缩小, 以至呈现相反趋势。如果锻炼的种子在水解代谢上只是比对照提早一步的话, 在萌发过程中其胚乳的剩余淀粉量应呈持续低于对照的趋势。然而, 实际上在发芽 60h 时, 锻炼处理的淀粉含量反而开始高于对照, 表明在此之前其淀粉水解速度已经低于对照。根据金杰里的观点^[1], 该变化可能是由于其糊粉层细胞原生质粘度增大等因素的影响, 使淀粉水解速度减慢。为此, 特观察了糊粉层细胞质分离, 以了解其原生质粘度的变化。

2.2 糊粉层细胞质壁分离

由经干旱锻炼的种子可溶氮增加^[4]以及重新吸水时蛋白质合成加快^[2]等事实推测, 锻炼的种子贮藏蛋白质在萌发之前已被少量水解, 在萌发开始后也水解较快。那么, 其糊粉层细胞液泡化程度则可能较高, 质壁分离也会快于对照。而观察结果(表1)是: 发芽 30h 与 40h 的种子糊粉层细胞, 两个品种的锻炼处理出现质壁分离所需时间反而比对照长些, 反映了其细胞原生质粘度在萌发早期已比对照增大。而且, Tr_1 细胞质壁分离所需时间比 Tr_2 长, 反映了前者原生质粘度变化较大。这与其品种特性有关。

表1 糊粉层细胞质壁分离所需时间 (min)

发芽时间 (h)	Tr_1	Ck_1	Tr_2	Ck_2
30	9	6	6	5
40	8	6	5	4

Tr_1 , Ck_1 : 丰抗13号锻炼处理与对照; Tr_2 , Ck_2 : 运城78-2锻炼处理与对照。

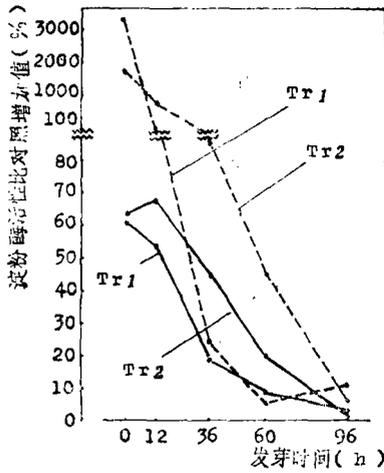


图1 淀粉酶活性的变化

·——· 总淀粉酶活性; ······ α-淀粉酶活性

2.3 淀粉酶活性

如图1所示,在发芽之前(0h),两个品种锻炼处理的总淀粉酶活性比对照高62%左右,α-淀粉酶活性比对照高达数十倍。此差异在发芽12h左右仍表现突出。显然,锻炼处理的总淀粉酶活性的增高取决于其中的α-淀粉酶活性的倍增,而后者是因其锻炼过程中已有部分酶的合成以及种子萌发过程启动后合成较快,因而酶的数量远大于对照^[8]。但是,随萌发过程延续,其酶活性降低。到发芽96h为止,锻炼处理的酶活性已降至接近对照水平。这可能是由于在体外测定条件下,酶活性不象在体内那样受原生质粘度等因素的影响。

2.4 蛋白氮含量及蛋白酶活性

两个品种的测定结果(图2)基本一

致。种子开始吸胀之前,锻炼处理的蛋白氮含量比对照约低8%,蛋白酶活性比对照提高65%左右,这说明种子贮藏蛋白在锻炼过程中也开始水解。随萌发过程延续,锻炼处理的蛋白酶活性降低,直至低于对照。该测定采用内源蛋白质作底物,可认为结果较符合体内实际情况。如前所述,锻炼处理的蛋白酶活性降低,同样可能是由其细胞原生质粘度增大等因素影响所致。萌发开始后,锻炼处理的蛋白氮含量与对照的差异也逐渐缩小,不过不象淀粉水解变化那样明显。

2.5 胚乳ATP含量

锻炼的萌发种子胚乳ATP含量也发生变化(图3),且两个品种表现基本一致。在发芽之前(0h),Tr₁ ATP含量比对照增加50%,Tr₂增加33%。在发芽36h之前,二者仍保持高于对照的水平,随后,则逐渐降至对照以下。这一变化反映了锻炼处理在发芽过程中贮藏物水解代谢变化的能量基础。在萌发初期,锻炼的种子贮藏物水解酶尽管可能受其胚乳原生质粘度增大等因素的影响,但由于其胚乳ATP水平高于对照,酶的合成加快,仍表现较高的酶活性。随萌发过程延续,锻炼处理的胚乳ATP水平优势消失,水解酶的合成及活性则可能受原生质粘度增大等因素影响而减弱,导致贮藏物水解强度降低。

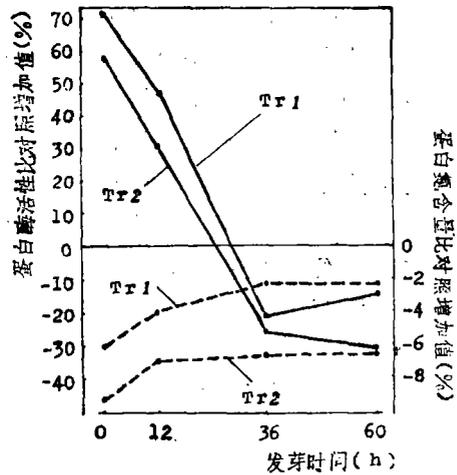


图2 蛋白酶活性与蛋白氮含量的变化

·——· 蛋白酶活性; ······ 蛋白氮含量

由上述结果可见，干旱锻炼对小麦种子萌发期贮藏物的水解过程确有影响。而且，所试的两个品种变化趋势基本一致。我们认为，干旱锻炼对小麦种子萌发过程的影响，不能仅从播前吸胀时间上来考虑。锻炼处理使种子贮藏物水解代谢强度随萌发过程延续而降低，有利于其抗旱性的提高。也许这正是其在土壤干旱条件下仍能保持较高的萌发出苗能力^[3]的内因之一。此外，种子萌发期贮藏物的水解、原生质粘度与能量水平三者之间，具有一定的相互制约性，值得我们在有关种子干旱锻炼及植物抗旱机理的研究中注意。

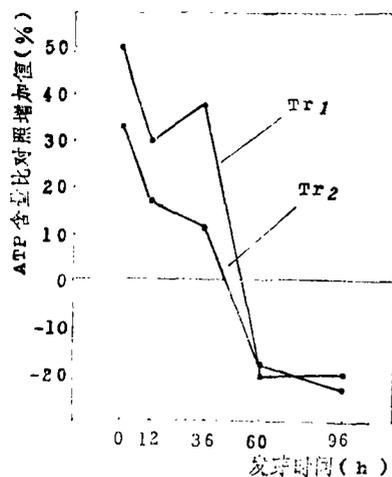


图3 小麦种子萌发期胚乳ATP含量

致谢：本文得到汪沛洪教授和王韶唐教授指教，特致谢意。

参 考 文 献

- 1 May L H et al. Field Crop Abstr 1962, 15: 93—98
- 2 Hanson A D. New Phytol 1973, 72: 1063—1073
- 3 徐恒平. 种子, 1989 (3), 15—18
- 4 郑广华等. 植物生理学通讯, 1957 (6), 18—26
- 5 Bewley J D, Black M. In Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination. Springer—Verlag Berlin Heidelberg New York, 1976, 2: 313—333
- 6 金杰里, 苏少泉等译. 鉴定和加强农作物抗旱性的方法. 科学出版社, 1957
- 7 徐恒平. 干旱地区农业研究, 1989 (2), 87—94
- 8 傅家瑞. 种子生理. 科学出版社, 1985, 108—131