

## 离体发育和萌发中花生种子不同部份内源 ABA 含量的变化

林 鹿

傅家瑞

(华南理工大学轻工食品学院, 广州 510641) (中山大学生物系, 广州 510275)

**摘要** 离体发育和萌发中花生种子不同部份的内源 ABA 含量变化存在明显的差异。种皮和子叶内存在 ABA 的  $C_{40}$  生物合成途径, 胚轴内侧为  $C_{15}$  生物合成途径。种子内源 ABA 含量变化和种子活力有密切关系。

**关键词** 花生; 种子发育; 种子萌发; 内源 ABA; 种子活力

## CHANGES OF ENDOGENOUS ABA CONTENT IN DIFFERENT TISSUES OF PEANUT SEED DEVELOPMENT AND GERMINATION IN VITRO

Lin Lu

(Faculty of Light and Food Industry, South China University of Techn., Guangzhou 510641)

Fu Jiarui

(Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

**Abstract** In this paper, changes of endogenous ABA content in different parts of the peanut seed (*Arachis hypogaea* L.) development and germination in vitro were studied. The results showed that there were distinct differences in changes of endogenous ABA content among tissues of testa, cotyledon and embryonic axis in peanut seed development and germination in vitro. There existed  $C_{40}$  path of endogenous ABA synthesis in the testa and the cotyledon, but  $C_{15}$  path in the embryonic axis. During treatment of precocious maturation and precocious germination, endogenous ABA content decreased drastically in the testa, cotyledon and embryonic axis. There was a correlation between changes of endogenous ABA content and vigor index of peanut seed.

**Key words** Peanut; Seed development; Seed germination; Endogenous ABA; Seed vigor

近年来的研究发现<sup>[1,2,20]</sup>, ABA 具有调控种子发育的作用。Crouch 和 Sussex<sup>[9]</sup> 报道, ABA 是

国家自然科学基金、高等学校博士学科点专项科研基金资助项目

1994-11-08 收稿; 1995-03-17 修回

缩写词: ABA—脱落酸; DAP—花生果针入土后天数;

Fluridone — 1-甲基-3-苯基-5(3-[三氟甲基]-苯基)-4(1-氢)-吡啶

维持油菜胚发育状态所必需的;大豆胚在发育早期就有较高的内源 ABA 含量<sup>[9]</sup>。一些研究表明<sup>[7]</sup>, ABA 的生物合成与细胞水势的改变有关, ABA 可通过 C<sub>40</sub> 途径合成<sup>[4,18]</sup>, 也可通过 C<sub>15</sub> 直接途径合成, 即由甲羟戊酸不经过类胡萝卜素合成这一步却直接转化为 ABA<sup>[7,16]</sup>, Fluridone 是 ABA 的 C<sub>40</sub> 合成途径的抑制剂<sup>[9]</sup>。Jackson<sup>[11]</sup> 认为, 发育中的果树胚内源 ABA 是来自种皮, 也有的研究者认为, 植物胚组织本身能够合成 ABA<sup>[4,15]</sup>。然而, 对发育和萌发中植物种子不同部份内源 ABA 合成和含量变化仍不清楚, 本文报道对花生种子的这方面研究结果。

## 1 材料与方法

**植物材料** 供试花生 (*Arachis hypogaea* L.) 品种为粤油-116, 种植于中山大学试验小区内。开花后挂牌, 以标记果针入土时间, 按规定天数收集第一侧枝上第一和第二节的花生荚果, 根据荚果大小、果壳花纹和种皮颜色选取发育一致的荚果和种子供试验用, 部份材料洗净后立即贮存于 -40℃ 中。

**离体胚培养** 按黄上志和傅家瑞<sup>[1]</sup> 的方法进行, ABA 合成抑制剂 Fluridone (Fluka 公司产品) 经 1%(w/v) 丙酮溶解后加入到培养基中, 达到浓度 10mg L<sup>-1</sup>, 渗透物质甘露醇的浓度为 12%。

**早熟处理** 参照 Kermod<sup>[13]</sup> 等的方法, 收集一定天数的荚果, 洗净后经滤纸吸干表面, 剥出种子, 空气中静置 1d 后, 依次转入含饱和硝酸钠 (RH64%)、饱和氯化钙溶液 (RH44%) 和饱和氯化锂 (RH11%) 的玻璃干燥器中, 于 25℃ 条件下各平衡 2d。在处理过程中, 每隔 1d 取样。

**早萌处理** 参照 Obendorf<sup>[17]</sup> 等的方法, 种子经表面灭菌后, 置于垫有双层定量滤纸 (预先用不含有机成份的 MS 液体培养基 10ml 湿润) 的培养皿中, 用蜡膜封口, 26℃ 黑暗条件下萌发 8d。

**发芽试验** 收集规定天数的荚果, 剥出种子, 经洗净消毒后采用垂直板直立发芽法, 26℃ 黑暗条件下萌发 72h, 测定发芽率 (发芽以下胚轴突出种皮表面 1mm 为标准) 和胚根长度。简化活力指数 = 发芽率 (%) × 胚根长度 (cm)。

**ABA 提取和测定** 按吴颂如<sup>[3]</sup> 的方法, 用南京农业大学的酶联免疫测试药盒测定, 在 ME891 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。

## 2 结果与分析

### 2.1 发育中花生种子不同部份内源 ABA 含量变化

从图 1 中可以看出, 花生种子离体发育过程中, 种皮内源 ABA 含量呈下降的趋势, 培养至 15d 时, 含量下降了 65.9%。子叶内源 ABA 含量在培养 5d 内变化不大, 然后缓慢下降。胚轴内源 ABA 含量呈上升趋势, 培养至 15d 时, 含量增加了 18.8%。

表 1 表明, 和无渗透物质处理相比较, 渗透物质提高了离体胚轴、种皮和子叶的内源 ABA 含量, Fluridone 抑制了渗透物质对种皮和子叶的这种作用, 但不抑制渗透物质对胚轴的这种作用, 暗示了胚轴可能存在和子叶及种皮不同的 ABA 生物合成途径。

表 1 Fluridone 和渗透调节物质对花生种子离体发育时不同部份内源 ABA 含量的影响

Table 1 Effect of Fluridone and osmotic regulator on endogenous ABA content in different parts of peanut seed in vitro culture

果针入土 后天数 DAP	培养时间(d) Days for culture	内源 ABA 含量 Endogenous ABA content (ng g <sup>-1</sup> FW)					
		甘露醇 Mannitol			Fluridone+Mannitol		
		种皮 T	子叶 C	胚轴 EA	种皮 T	子叶 C	胚轴 EA
15	0	71.3	52.5	84.3	71.5	52.6	80.8
	5	121.8	73.4	124.7	54.8	39.6	116.8
	10	178.4	79.8	171.4	28.6	27.4	163.7
	15	213.6	86.4	198.5	14.3	19.7	189.8
40	0	250.1	91.4	225.9	250.8	89.9	226.4
	5	278.4	132.6	321.6	160.1	79.3	313.7
	10	291.3	145.3	343.8	72.2	54.7	329.6
	15	314.7	149.7	368.7	20.7	40.8	354.6
65	0	161.7	176.7	425.8	159.6	174.9	424.9
	5	168.4	204.7	453.4	73.4	123.6	449.7
	10	171.9	208.5	463.9	21.7	98.7	457.8
	15	170.2	213.7	469.8		86.4	463.2

T=Testa; C=Cotyledon; EA=Embryonic axis; DAP=Days after pegging of the peanut when the material is collected

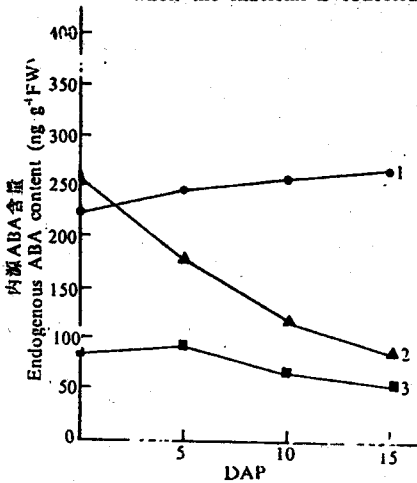


图 1 离体发育花生种子不同部份内源 ABA 含量变化

Fig. 1 Changes of endogenous ABA content in different parts of peanut seed in vitro culture

1. 胚轴 Embryonic axis; 2. 种皮 Testa; 3. 子叶 Cotyledon  
DAP—Seeds collected at days after pegging of peanut

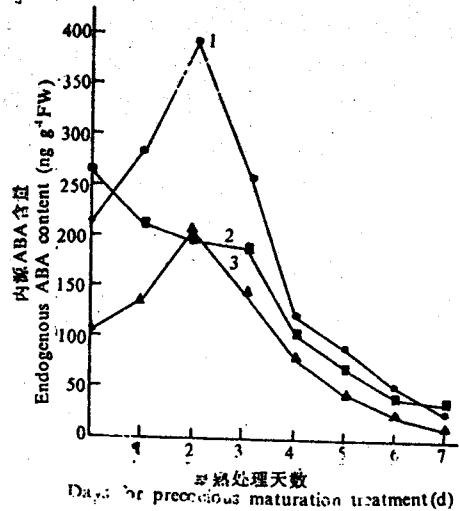


图 2 40 DAP花生种子早熟处理时不同部份内源ABA含量变化

Fig. 2 Changes of endogenous ABA content in different parts of peanut seed during precocious maturation treatment

1. 种皮 Testa; 2. 胚轴 Embryonic axis; 3. 子叶 Cotyledon

## 2.2 花生种子早熟和早萌处理时不同部份内源 ABA 含量的变化

图 2 显示, 45DAP 花生种子在早熟处理的开始 2d 内, 子叶和种皮的内源 ABA 含量急剧升高, 随后持续下降; 但 65DAP 种子的种皮内源 ABA 含量在整个早熟处理过程中一直是下降的, 处理 5d 时, 几乎检测不出内源 ABA 的存在(未列出)。胚轴的内源 ABA 含量在处理过程中也不断下降。早熟处理能使花生种子不可逆地中断发育, 即使在重新培养条件下, 也不能恢复发育状态, 一旦获得充足的水分, 种子转向了萌发(未列出)。花生种子早熟处理过程中, 不同部份内源 ABA

表2 发育中花生种子转向萌发时不同部份内源 ABA 含量及活力指数的变化  
Table 2 Changes of vigor index and endogenous ABA content in different parts of peanut seed during germination

果针入土 后天数 DAP	萌发时内源 ABA 净下降量 ABA content during germination (ng g <sup>-1</sup> FW)			活力指数 Vigor index
	种皮 Testa	子叶 Cotyledon	胚轴 Embryonic axis	
25	63.3	51.3	42.4	0.07
35	154.7	61.9	80.9	0.44
45	198.3	88.0	201.2	2.15
55	172.5	113.1	324.3	3.14
65	112.8	148.6	382.2	4.39
75		157.9	401.3	6.78
成熟种子		161.9	411.7	8.43

ABA 净下降量 = 萌发前内源 ABA 含量 - 萌发 72h 内源 ABA 含量  
Net loss of ABA = Value of endogenous ABA content before germination - Value of endogenous ABA content until 72h for germination

含量的下降,就可能反映了种子内部生理过程的一种调整,即由发育状态向萌发状态作准备。

早萌处理是将种子置于无外源营养条件下的一种培养方式。图 3 表明,花生种子不同部份的内源 ABA 含量在早萌处理过程中呈下降的趋势,花生种子在早萌处理过程中,能逐渐由发育状态转向萌发状态(未列出)。

发育中的花生种子转向萌发时,活力指数随发育过程呈上升趋势。萌发时内源 ABA 含量下降,子叶和胚轴内源 ABA 净下降量越大,活力指数就越高。种皮 ABA 含量净下降最大值出现于 45DAP(表 2)。

### 3 讨论

Gamble 和 Mullet 报道<sup>[10]</sup>, Fluridone 抑制了大麦籽粒内源 ABA 的合成。我们用 Fluridone 处理花生种子不同部份离体培养的结果表明, ABA 抑制了种皮和子叶的内源 ABA 的合成,但对胚轴内源 ABA 的合成没有影响,似乎在种子的不同部份内存在不同的 ABA 生物合成途径,胚轴内是 C<sub>15</sub> 合成途径,子叶和种皮内是 C<sub>40</sub> 合成途径。种子内不同部份内存在不同的 ABA 生物合成途径,反映了 ABA 调节的生理过程的多样性。Karssen<sup>[12]</sup>发现,拟南芥种子发育过程中有两个 ABA 含量高峰,分别来自母体和胚本身。花生种子发育过程中也出现两个 ABA 含量高峰<sup>[2]</sup>。从渗透物质对种子不同部份 ABA 合成的影响看来,种皮在发育后期 ABA 合成的速度变慢了,胚轴内的速度仍较快,说明在种子发育的前中期,ABA 含量的增加可能是种皮和子叶内 C<sub>40</sub> 合成途径的作用。

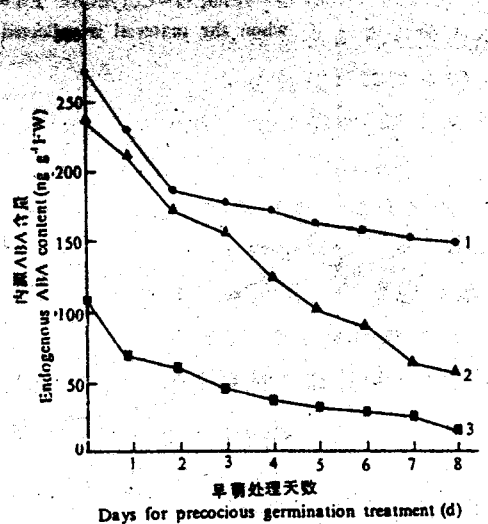


图 3 45 DAP 花生种子早萌时不同部份内源 ABA 含量的变化

Fig. 3 Changes of endogenous ABA content in different parts of the peanut seed during precocious germination treatment  
1. 胚轴 Embryonic axis; 2. 子叶 Cotyledon; 3. 种皮 Testa

从而调节贮藏物质如贮藏蛋白质的合成<sup>[1]</sup>。在发育后期, C<sub>15</sub> 合成途径起主要作用, 阻止种子发生早萌。当然, 由于花生种子不同部份的大小比例不同及它们之间内源 ABA 发生转移的可能, 这些仍需进一步的研究。

一些未成熟的种子如小麦<sup>[6]</sup>和大豆<sup>[5]</sup>, 在自然脱水成熟前经早熟或早萌处理后, 内源 ABA 含量下降, 种子提前萌发。花生种子经早熟和早萌处理后, 不同部份的内源 ABA 含量也下降, ABA 的净下降量大, 一方面反映了种子发育过程中内源 ABA 含量增大, 另一方面反映了种子发育停止后内源 ABA 含量迅速下降, 使原来被 ABA 抑制的生理活动可以重新启动。种子不同部份内源 ABA 下降和速度不同, 可能反映了它们在种子发育和萌发中生理作用的差异性。

### 参考文献

- 1 黄上志, 傅家瑞. 脱落酸对发育中花生胚萌发及贮藏蛋白质合成和积累的影响. 1993, 19(1):31-37
- 2 林鹿, 傅家瑞. 离体发育花生胚蛋白酶活性变化及脱落酸的影响. 中山大学学报, 1995, (2):124-130
- 3 吴頌如, 陈婉芬, 周莹. 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 Aldridge C D, Probert R I. Seed development, the accumulation of abscisic acid and desiccation tolerance in the aquatic grass *Porteresia tateoka* and *Oryza sativa* L.. *Seed Sci Res*, 1993, 3:97-106
- 5 Barris T S, Edjo D T, Wahab A H. Effects of seed size on seedling field performance. *Crop Sci*, 1973, 13:207-212
- 6 Bewley J D. Physiological aspects of desiccation-tolerance. *Ann Rev Plant Physiol*, 1989, 30:195-237
- 7 Cown A K, Railton I D. Chloroplasts and the biosynthesis and metabolism of abscisic acid. *J Plant Growth Regu*, 1986, 4:211-217
- 8 Crouch M L, Sussex I M. Development and storage protein synthesis in *Brassica napus* L. embryo in vivo and vitro. *Planta*, 1984, 153:64-74
- 9 Fong F, Smith J D, Koehler D E. Early events in maize seed development. *Plant Physiol*, 1983, 73:899-906
- 10 Gamble P E, Mullet T E. Inhibition of carotenoid accumulation and abscisic acid biosynthesis in fluridone-treated dark grown barley. *Eur J Biochem*, 1986, 160:117-225
- 11 Jackson G A D. Hormonal control of fruit development, seed dormancy and germination, with particular reference to *Rosa Soc Chen Ind* (Lond), Monager, 1988, 31:127-156
- 12 Karssen C M, Brinkhorsk-Vander-Swan O L L, Greakland A E. Induction of dormancy during seed development by endogenous abscisic acid: Studies on abscisic acid deficient genotype of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Planta*, 1987, 157:158-167
- 13 Kermode A R. Regulatory mechanism involved in the transition from seed development to germination. *Crit Rev Plant Sci*, 1990, 9:155-173
- 14 Li Y, Walton D C. Xanthophyll and abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean leaves. *Plant Physiol*, 1987, 85:910-917
- 15 Neill S J, Horgan R, Rees A F. Seed development and vivipary in *Zea mays* L. *Ibid*, 1987, 13:358-364
- 16 Noddle R C, Robinson D R. Biosynthesis of abscisic acid incorporate from 2-<sup>14</sup>C-mevalonic acid by intact fruit.

Biochem J, 1969, 112:547-554

- 17 Obendorf R L, Wettlaufer S A. Precocious germination during in vitro growth of soybean seeds. *Plant Physiol*, 1984, 76:1023-1029
- 18 Parry A D, Horgan R. Carotenoid metabolism and the biosynthesis of abscisic acid. *Phytochemistry*, 1991, 30:815-817
- 19 Quebedeaux B, Sweeter P B, Rowell J C. Abscisic acid levels in soybean reproductive structure development. *Plant Physiol*, 1981, 58:363-369
- 20 Walbaum G E, Jissoui T, Bradford K J. Water relationship of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). II. Sensitivity of germination to water potential and abscisic acid. *Plant Physiol*, 1990, 92:1029-1036