

萌发玉米种子脱水耐性与胚根细胞超微结构的变化

伍贤进^{1*}, 宋松泉², 田向荣², 类延保², 傅家瑞²

(1. 怀化学院生物工程系, 湖南 怀化 418008; 2. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 玉米种子脱水试验表明, 25℃下萌发 24 h 种子脱水耐性开始丧失, 丧失 50% 和 100% 的时间分别为 33 h、58 h。萌发过程中随着吸胀时间增加, 玉米种子脱水耐性逐步丧失。显微观察显示, 种子吸胀过程中, 胚根细胞的贮藏物质逐步减少, 线粒体等细胞器的分化程度则不断提高, 尤其是脂类物质的分解程度与脱水耐性变化的关系似乎更明显。

关键词: 玉米种子; 萌发; 脱水耐性; 超微结构

中图分类号: Q944.59

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)05-0467-04

Changes in Radicle Cell Ultrastructure of Germinated *Zea mays* Seeds during Desiccation

WU Xian-jin^{1*}, SONG Song-quan², TIAN Xiang-rong², LEI Yan-bao², FU Jia-rui²

(1. Department of Bioengineering, Huaihua College, Huaihua 418008, China;

2. College of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Germinated maize (*Zea mays*) seeds were used for desiccation tolerance experiment. The seeds started to lose desiccation tolerance at 25℃ after germination for 24 hours. The loss of desiccation tolerance reached 50% and 100% after 33 and 58 hours, respectively. Ultrastructure observation showed that the reserve substances especially lipids in radicle cells decomposed gradually during treatment, while organelles such as mitochondria were well differentiated.

Key words: *Zea mays* L. seeds; Germination; Desiccation tolerance; Ultrastructure

成熟种子的脱水耐性与细胞的分化程度和不溶性贮藏物质的含量有密切关系, 不耐脱水的顽拗性种子成熟时细胞的不溶性贮藏物较少, 细胞仍处于高度分化状态; 而耐脱水的正常性种子成熟时细胞内不溶性贮藏物丰富, 细胞处于脱分化状态^[1,2]。正常性种子的脱水耐性在成熟过程中获得, 在吸胀萌发过程中逐步丧失^[3]。在萌发的早期阶段和胚根突破种皮之前, 大多数正常性种子能够再次干燥到它萌发前的含水量, 而不引起伤害。但在萌发的后期, 相同程度的脱水将显著降低种子的生活力, 如果在胚根延长开始后脱水, 常常导致死亡^[4]。如: 萌发 6 h 的大豆(*Glycine max* (L.) Merr. cv. Maple Arrow) 种子能够忍受严重脱水, 而萌发 36 h 的种子则不能

被脱水^[5]。绿豆种子吸胀过程中脱水耐性变化的时间模式表明, 正常性种子吸胀过程中脱水耐性是逐步丧失的, 是一种数量特征^[6]。由此可见, 利用正常性种子萌发不同时间能得到不同脱水敏感程度的实验材料。本文研究玉米种子萌发时脱水耐性丧失过程中胚根细胞超微结构的变化, 将有利于阐明种子脱水耐性丧失的机理, 以进一步明确脱水耐性与细胞结构的关系。

1 材料和方法

材料 供试玉米品种“粤单 9117” (*Zea mays* L. cv. Yuedan 9117) 购自广东省农业科学院。

种子萌发和吸胀 选取 120 颗种子置于垫

收稿日期: 2003-06-16 接受日期: 2003-09-29

基金项目: 湖南省教育厅科研项目 (02C296); 国际植物遗传资源研究所 (IPGRI, 00/076) 资助

* 通讯作者 Corresponding author

有两层滤纸的培养皿($\Phi=15\text{ cm}$)中,加入 30 ml 蒸馏水,25℃暗中萌发或吸胀,胚根突破种皮 1 mm 计为萌发。重复 3 次。

种子脱水处理 将吸胀萌发不同时间的种子埋于活性硅胶中,脱水至含水量大约为 $0.09\text{ g H}_2\text{O g}^{-1}\text{ DW}$ 。

存活率的测定 脱水后的 50 颗种子经 0.1% HgCl_2 消毒 1 min 并用无菌水充分漂洗后,置于放有 1 层滤纸和 15 ml 无菌水的培养皿 ($\Phi=12\text{ cm}$) 中,25℃暗中培养 5 d 后测定存活率、幼苗的鲜重,计算活力指数,活力指数 = 萌发率 \times 幼苗鲜重 (mg)。有胚根或侧根生出以及有芽明显生长者计算为存活。重复 3 次。

细胞超微结构观察 按张景强等^[7]的方法,将胚根尖端切成 1 mm 大小,立即放入预冷的固定液(0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.2)、4%戊二醛)中抽真空 20 min,固定。材料脱水前用磷酸缓冲液冲洗 6 次,每次 20 min;然后依次在 50%、70%、80%、90%、100%乙醇、含无水硫酸铜的 100%乙醇、环丙烷和含无水硫酸铜的环丙烷中脱水,每次 15 min。脱水完毕依次用 3:1、1:1 和 1:3 的环氧丙烷:Epson 分别进行包埋 1 h、4 h 和 1 h。用 Philip FEITECHNAI 12 分析透射电镜观察拍照。

2 结果和分析

2.1 萌发率和吸胀作用对种子脱水耐性的影响

玉米种子的萌发和脱水耐性丧失曲线均为“S”形。种子初始萌发时间为 16 h, 50% (T_{50}) 和 100% (T_{100}) 萌发的时间分别为 38 h 和 66 h; 24–53 h 的萌发率快速增长(图 1)。吸胀 24 h 内的玉米种子是耐脱水的,且活力指数比干种子还有所提高;吸

胀 24 h 后,种子脱水耐性(存活率和活力指数)逐步下降,存活率丧失 50%和 100%的吸胀时间分别约为 33 h 和 58 h (图 2)。种子脱水耐性丧失最快的时间与种子萌发率快速增长的时间大体相同。

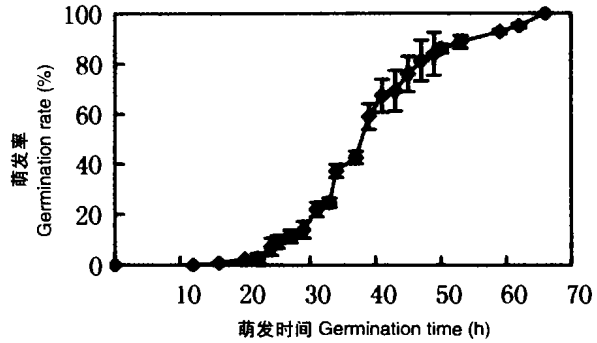


图 1 玉米种子萌发过程中萌发率的变化
Fig. 1 The changes in germination rate of maize seeds at different germination times

2.2 胚根细胞超微结构

未吸胀的胚根细胞内贮藏物质含量丰富,含有淀粉粒的质体、脂肪体和蛋白体几乎充满了整个细胞,沿细胞膜还分布着一圈排列整齐的脂肪体,线粒体虽然可以观察到,但其内膜很不发达(图版 I:1–3)。吸胀 24 h 后细胞内贮藏物质已开始减少,尤其是脂肪体的数量已明显减少,且脂肪体的电子密度也比未吸胀的要低,但沿细胞膜分布的脂肪体仍明显存在(图版 I:4)。吸胀 33 h 后线粒体的内膜系统已发育得较完备,线粒体数量也较多,并有内质网的出现,细胞内的脂肪体进一步减少,沿细胞膜分布的一圈脂肪体已完全消失(图版 I:5、6)。在吸胀 58 h 的细胞中脂肪体已很少,线粒体数量较多、内膜发育很完善(图版 I:7、8)。

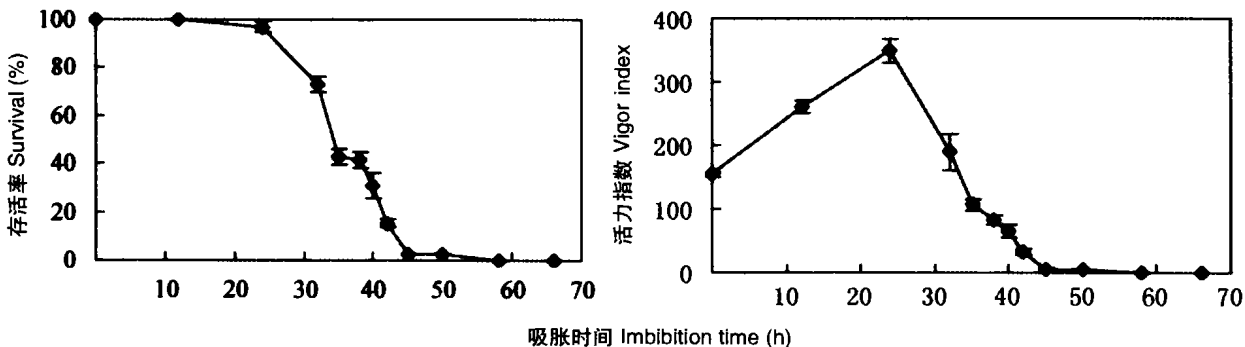


图 2 吸胀对玉米种子存活率、活力指数的影响
Fig. 2 Effects of imbibition time on survival rate and vigor index of maize seeds

3 讨论

研究表明,玉米种子萌发过程中,脱水耐性丧失与其胚根细胞结构变化有密切关系。玉米种子萌发过程中脱水耐性和细胞结构的变化,与正常性种子菜豆成熟时脱水耐性及细胞结构变化趋势恰好相反,前者是丧失脱水耐性,贮藏物质分解,细胞结构分化(图版 I);后者则是获得脱水耐性,贮藏物质积累,细胞结构脱分化^[1]。萌发 58 h 玉米种子的脱水耐性与顽拗性种子已十分相似,其胚根细胞的结构和贮藏物质也与顽拗性种子基本相似^[1,2]。研究还表明,玉米胚根细胞的各种贮藏物质中,以脂肪类与脱水耐性的关系最为密切,而淀粉则关系不大。如,萌发 24 h 靠近细胞膜内侧脂肪体的电子密度已减少,到 33 h 时这些脂肪体完全消失,而萌发 58 h 细胞内的脂肪体几乎观察不到,但淀粉粒仍有存在。从玉米种子萌发过程中胚根细胞结构的变化可以看出,正常性种子萌发时细胞内贮藏物质的消耗和细胞分化程度的提高是逐步的,当然其脱水耐性的丧失呈现一定的数量特征^[6]。Sun 提出用萌发的正常性种子作为材料来研究顽拗性种子脱水敏感性的机理,这样可以不受地理分布和成熟季节的限制来研究顽拗性种子脱水敏感性机理^[3],但正常性种子脱水伤害的机理是否与顽拗性种子一致尚需进行更深入的研究。本研究表明,萌发 58 h 的玉米种子胚根细胞结构的确与顽拗性种子十分类似;控制玉米种子的萌发时间可获得一系列不同脱水耐性的材料。因此,可以用萌发的正常性种子来研究顽拗性种子的脱水敏感性机理。

参考文献

[1] Berjak P, Pammenter N W. Aspects of our understanding of the biology and responses of non-orthodox seeds [A]. In: Programme

and Abstract of The Second International Conference on Seed Science and Technology [C]. Guangzhou, 1997, 65.

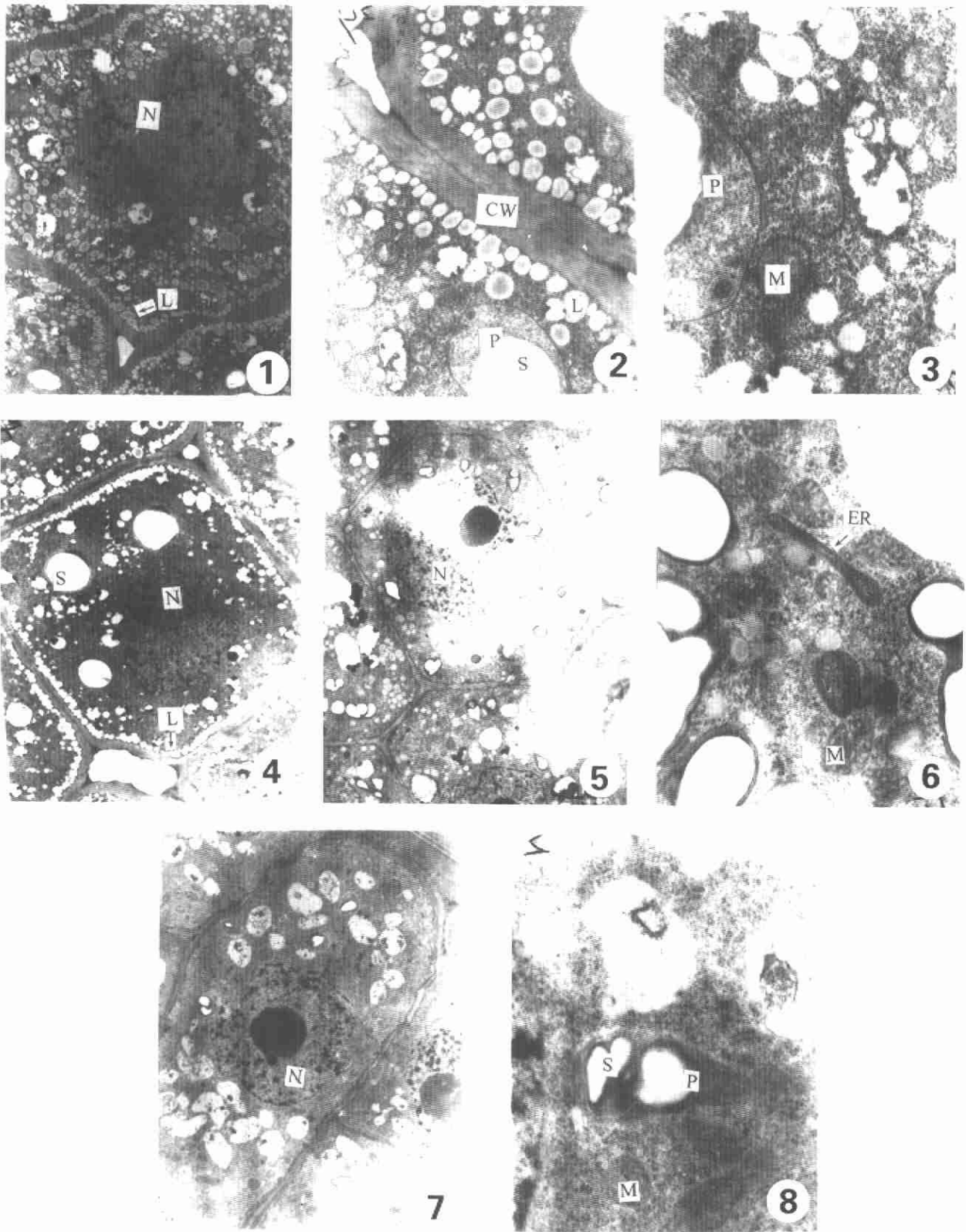
- [2] Peng Y F (彭业芳), Fu J R (傅家瑞). Germination of lychee seeds after maturation and their ultrastructure observation [J]. Chin Sci Bull (科学通报), 1995, 40(5):450-452. (in Chinese)
- [3] Sun W Q. Desiccation sensitivity of recalcitrant seeds and germinated orthodox seeds: can germinated orthodox seeds serve as a model system for studies of recalcitrance? [A] In: Marzalina M, Khoo K C, Jayanthi N, et al. Proceedings of IUFRO Seed Symposium 1998 "Recalcitrant Seeds" [C]. Malaysia: Kuala Lumpur, 1999. 29-42.
- [4] Mckersie B D, Senaratna T, Walker M A, et al. Deterioration of membranes during aging in plants: evidence for free radical mediation [A]. In: Nooden L D, Leopold A C. Senescence and Aging in Plants [C]. San Diego: Academic Press Inc, 1988. 441-464.
- [5] Senaratna T, Mckersie B D. Characterization of solute efflux from dehydration injured soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds [J]. Plant Physiol, 1983, 72:911-914.
- [6] Qian C M (钱春梅), Song S Q (宋松泉), Wu X J (伍贤进), et al. Temporal pattern of changes in desiccation tolerance during imbibition of *Phaseolus radiatus* L. seeds [J]. Acta Sci Natl Univ Sunyatseni (中山大学学报自然科学版), 2000, 39 (Suppl.2):104-111. (in Chinese)
- [7] Zhang J Q (张景强), Pu Y J (朴英杰), Cai F C (蔡福筹), et al. Biological Electro Microscopy [M]. 2 ed. Guangzhou: Zhongshan University Press, 1993. 43-64. (in Chinese)

图版说明 Explanation of plate

图版 I Plate I

CW: 细胞壁 Cell wall; ER: 内质网 Endoplasmic reticulum; L: 脂肪体 Lipid body; M: 线粒体 Mitochondrion; N: 细胞核 Nucleus; P: 质体 Plastid; PL: 质膜 Plasmolemma; S: 淀粉粒 Starch

1-8 为玉米种子吸胀过程中胚根细胞的超微结构 Radicle cell ultrastructure of maize seeds during imbibition. 1-3. 吸胀 Imbibed 0 h, 1. ×3 000, 2. ×8 350, 3. ×18 000; 4. 吸胀 Imbibed 24 h, ×3 000; 5-6. 吸胀 Imbibed 33 h, 5. ×3 000, 6. ×15 000; 7-8. 吸胀 Imbibed 58 h, 7. ×3 000, 8. ×18 000.



伍贤进等：图版 I

WU Xian-jin, et al.: Plate I