

## 钙提高玉米种子活力的作用研究

宋松泉 陈健 傅家瑞

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

**摘要** 本文以玉米种子为材料,研究了钙对种子活力的影响。在0-40 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度范围,低浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  提高种子的发芽率和活力,最适浓度为10mmol/L,超过此浓度  $\text{Ca}^{2+}$  的促进作用减弱。 $\text{Ca}^{2+}$  提高种子发芽率和活力的原因可能是  $\text{Ca}^{2+}$  促进胚和胚乳中  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶的活性,加速胚乳中贮藏物质如淀粉和可溶性蛋白的动员。在种子萌发过程中,EGTA和EDTA能降低种子活力,2.5和10mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  能部分解除EGTA和EDTA的抑制作用。

**关键词** 钙;种子活力;淀粉酶;螯合剂;玉米

## SEED VIGOR OF *ZEA MAYS* L. IMPROVED BY CALCIUM

Song Songquan Chen Jian Fu Jiarui

(School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

**Abstract** The effect of calcium on vigor of *Zea mays* L. seeds was studied. When seeds were treated with 0-10mmol/L concentrations of  $\text{CaCl}_2$ , the germination percentage and vigor of seeds were increased. As  $\text{Ca}^{2+}$  concentration was more than 10mmol/L, the effects on seed viability and vigor decreased. The reasons that  $\text{Ca}^{2+}$  raised germination percentage and vigor of seeds might be due to the enhancing activities of amylases in embryo and endosperm, and the accelerating mobilization of stored reserves, e.g. starch and soluble proteins in endosperm. During seed germination, the exogenous EGTA and EDTA could drop seed vigor, but this inhibitory effect was partially removed by the addition of 2.5 and 10mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Key words** Calcium; Seed vigor; Amylases; Chelating agent; *Zea mays* L.

早期的研究结果认为  $\text{Ca}^{2+}$  在种子萌发中的主要作用是作为营养物,维持一些基本的生理功能,例如膜的稳定性等<sup>[1]</sup>。如果在周围的土壤或者培养基中有可利用的  $\text{Ca}^{2+}$ ,则会促进种子萌发<sup>[1]</sup>。用30mmol/L  $\text{CaCl}_2$  溶液处理种子,可提高花生种子活力,降低溶质的渗漏<sup>[10]</sup>。近几年来发现,  $\text{Ca}^{2+}$  可以作为第二信使<sup>[2]</sup>,调节种子的萌发和休眠<sup>[1]</sup>。为了研究  $\text{Ca}^{2+}$  提高种子活力

广东省科委青年科学基金和国家自然科学基金资助项目

1994-10-13 收稿; 1995-03-29 修回

的生理原因,本文以玉米种子为材料,研究了  $\text{Ca}^{2+}$  对玉米种子活力、淀粉降解及淀粉酶等的作用;以及  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂 EGTA[ethyleneglycol-bis-( $\beta$ -aminoethylether)-N,N,N,N-tetraacetic acid] 和 EDTA (乙二胺四乙酸) 对种子活力的影响。

## 1 材料和方法

供试材料为玉米 (*Zea mays* L.) 92-56 品种种子,由广东省农科院旱作所提供。种子经选择后,放在各种溶液中处理 24h (25℃, 黑暗),然后放在垫有两层湿润滤纸的烧杯中恒温 (25℃) 萌发,在萌发 96h 取样测定种子发芽率和活力;萌发 24h 取样进行其他项目的测定。

**种子生活力的测定** 按照傅家瑞<sup>[7]</sup>的方法,简化活力指数 = 发芽率 (%) × 鲜重 (g)。

**可溶性糖含量的测定** 按照黄学林等<sup>[6]</sup>的萘酚比色法,以干重的百分数表示。

**淀粉含量的测定** 按照袁晓华和杨中汉<sup>[8]</sup>的碘钼酸比色法测定还原糖的含量,然后以干重为基础,推算淀粉的含量。

**$\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶活性的测定** 按照夏叔芳和於新建<sup>[4,5]</sup>的方法,用降解淀粉的 mg 数  $\text{mg}^{-1}$  蛋白  $\text{min}^{-1}$  表示  $\alpha$ -淀粉酶的活性;  $\beta$ -淀粉酶的活性用形成麦芽糖的 mg 数  $\text{mg}^{-1}$  蛋白  $\text{min}^{-1}$  表示。

**可溶性氨基酸含量的测定** 按 Rosen<sup>[13]</sup>的茚三酮比色法测定。

**蛋白质含量的测定** 按 Bradford<sup>[9]</sup>的考马斯亮蓝 G-250 方法,以牛血清白蛋白作标准。

以上实验均取三次重复平均值。EGTA 为 Sigma 公司产品,国产试剂为 GR 级,水为重蒸水。

## 2 实验结果

### 2.1 $\text{Ca}^{2+}$ 对种子活力的影响

图 1 结果表明,用  $\text{Ca}^{2+}$  处理玉米种子,在 0-10mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  浓度范围,种子发芽率和简化活力指数逐渐升高;当  $\text{Ca}^{2+}$  浓度为 10mmol/L 时,种子发芽率和简化活力指数最大。 $\text{Ca}^{2+}$  浓度超过 10mmol/L,则随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加,种子发芽率和简化活力指数下降。 $\text{Ca}^{2+}$  对简化活力指数的影响比发芽率大。

### 2.2 $\text{Ca}^{2+}$ 提高种子活力的生理变化

#### 2.2.1 可溶性糖和淀粉含量的变化

0-10mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理种子,萌发种子的胚和胚乳中可溶性糖的含量增加; $\text{Ca}^{2+}$  浓度超过 10mmol/L,可溶性糖的含量则下降;种子萌发 24h,胚中的可溶性糖含量比胚乳高得多(图 2)。

$\text{Ca}^{2+}$  处理降低胚和胚乳中淀粉的含量,较适宜的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度均为 10mmol/L (图 2)。

#### 2.2.2 $\alpha$ -和 $\beta$ -淀粉酶活性的变化

0-40mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理种子,胚乳中  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶活性增强,较适的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度为 10mmol/L,此时的  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶活性分别比对照增加了 52% 和 179%。0-10mmol/L

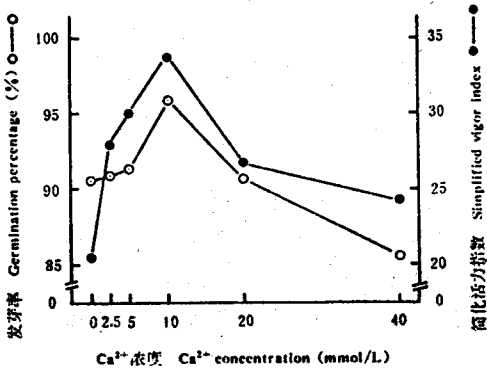


图1 Ca<sup>2+</sup>对玉米种子活力的影响

Fig. 1 Effect of calcium on vigor of *Zea mays* L. seeds

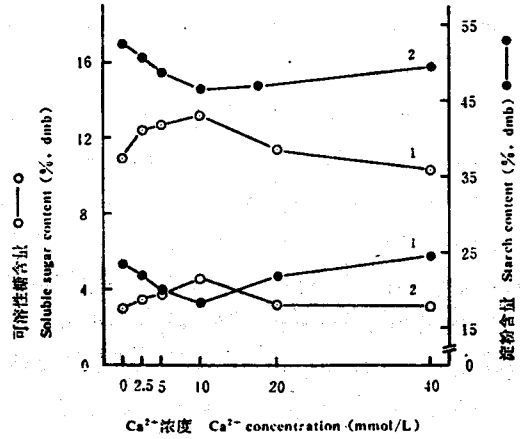


图2 Ca<sup>2+</sup>处理对萌发玉米种子中可溶性糖和淀粉含量的影响

Fig. 2 Effects of Ca<sup>2+</sup> treatment on soluble sugar and starch contents in germinating *Zea mays* L. seeds (dmb: dry mass basis)

1. 胚 Embryo; 2. 胚乳 Endosperm

Ca<sup>2+</sup>也能增加胚中α-和β-淀粉酶的活性,但其作用比对胚乳小得多,且Ca<sup>2+</sup>浓度超过10mmol/L时,β-淀粉酶活性比对照还低(图3)。

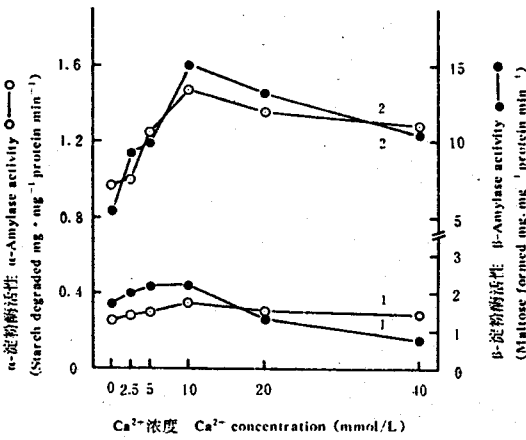


图3 Ca<sup>2+</sup>处理对萌发玉米种子中α-和β-淀粉酶活性的影响

Fig. 3 Effects of Ca<sup>2+</sup> treatment on α- and β-amylase activities in germinating *Zea mays* L. seeds  
1. 胚 Embryo; 2. 胚乳 Endosperm

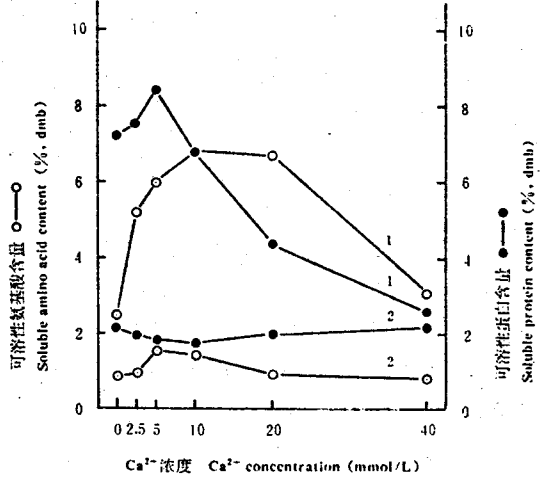


图4 Ca<sup>2+</sup>处理对萌发玉米种子中可溶性氨基酸和可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 4 Effects of Ca<sup>2+</sup> treatment on soluble amino acid and soluble protein contents in germinating *Zea mays* L. seeds  
1. 胚 Embryo; 2. 胚乳 Endosperm

### 2.2.3 可溶性氨基酸和可溶性蛋白质含量的变化

Ca<sup>2+</sup> 提高胚和胚乳中可溶性氨基酸的含量,对胚的促进作用明显大于胚乳,但最适的作用浓度不同,胚为 10-20mmol/L Ca<sup>2+</sup>,胚乳为 5mmol/L Ca<sup>2+</sup>. 2.5 和 5mmol/L Ca<sup>2+</sup> 促进胚中可溶性蛋白的合成和胚乳中可溶性蛋白的动员。当 Ca<sup>2+</sup> 浓度超过 5mmol/L 则抑制胚中可溶性蛋白的合成(图 4)。

### 2.3 Ca<sup>2+</sup> 螯合剂对种子活力的影响

EGTA 和 EDTA 是 Ca<sup>2+</sup> 的螯合剂,能清除 Ca<sup>2+</sup> 的信使作用<sup>[2]</sup>。用 EGTA 处理玉米种子,引起发芽率和简化活力指数下降。外源 Ca<sup>2+</sup> 能部分解除 EGTA 的抑制作用,10mmol/L Ca<sup>2+</sup> 比 2.5mmol/L Ca<sup>2+</sup> 作用明显(图 5)。用 EDTA 处理玉米种子,对种子发芽率和活力的影响与 EGTA 的作用类似(图 6)。

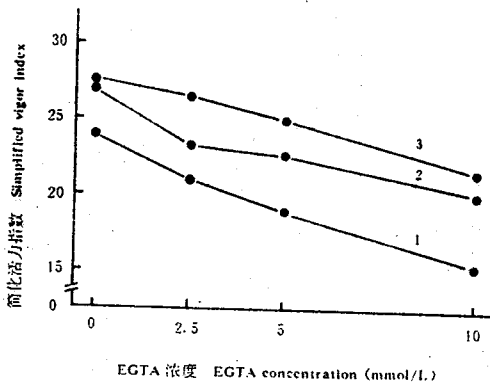


图 5 EGTA 和 Ca<sup>2+</sup> 对玉米种子活力的相互作用  
Fig. 5 Interaction of EGTA and Ca<sup>2+</sup> on vigor of *Zea mays* L. seeds

1. EGTA; 2. EGTA+2.5mmol/L Ca<sup>2+</sup>;
3. EGTA+10mmol/L Ca<sup>2+</sup>

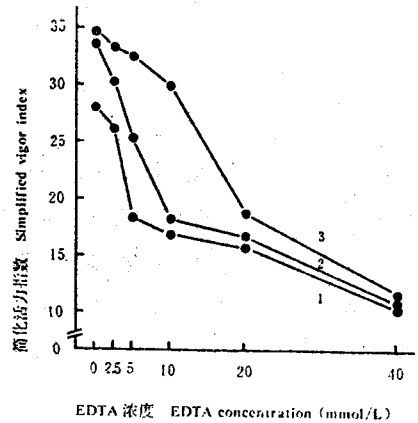


图 6 EDTA 和 Ca<sup>2+</sup> 对玉米种子活力的相互作用  
Fig. 6 Interaction of EDTA and Ca<sup>2+</sup> on vigor of *Zea mays* L. seeds

1. EDTA; 2. EDTA+2.5mmol/L Ca<sup>2+</sup>;
3. EDTA+10mmol/L Ca<sup>2+</sup>

## 3 讨论

玉米是淀粉类种子,在种子萌发时, $\alpha$ -和 $\beta$ -淀粉酶是淀粉的主要水解酶<sup>[8]</sup>。大麦 $\alpha$ -淀粉酶是一种含 Ca<sup>2+</sup> 的金属酶。当 GA 处理的大麦糊粉层细胞用毫摩尔级的浓度的 CaCl<sub>2</sub> 培养时,细胞质的 Ca<sup>2+</sup> 水平被维持在 100nmol/L, $\alpha$ -淀粉酶的合成速度较低;当外源 Ca<sup>2+</sup> 浓度提高到 10mmol/L 时,细胞质 Ca<sup>2+</sup> 水平上升到约 300nmol/L, $\alpha$ -淀粉酶的合成速度增加<sup>[12]</sup>。

本研究表明,0-10mmol/L Ca<sup>2+</sup> 提高玉米胚和胚乳中 $\alpha$ -和 $\beta$ -淀粉酶活性,使胚和胚乳中可溶性糖含量增加,淀粉含量下降。最适的 Ca<sup>2+</sup> 浓度为 10mmol/L;超过此浓度 $\alpha$ -和 $\beta$ -淀粉酶活性、以及淀粉的水解下降,其原因可能是当外源 Ca<sup>2+</sup> 浓度较高时,会大量增加胞内的 Ca<sup>2+</sup> 含量,同磷酸反应形成沉淀而扰乱以磷酸为基础的能量代谢<sup>[11]</sup>。 $\beta$ -淀粉酶是静止种子中的预存酶,不是金属酶,其活性被高水平的可溶性糖诱导<sup>[9]</sup>。Ca<sup>2+</sup> 提高 $\beta$ -淀粉酶的活性,可能是由于 Ca<sup>2+</sup> 处理后,大量生成的可溶性糖诱导其酶活性提高的结果。

用 EGTA 和 EDTA 处理种子, 能使细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  活性降低, 种子活力下降。在用 EGTA 和 EDTA 处理种子的同时加入一定浓度的  $\text{Ca}^{2+}$ , 可能增加细胞质中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 从而提高种子活力。

0-10mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  促进胚乳中可溶性蛋白的降低, 增加胚和胚乳中可溶性氨基酸的含量, 特别是在胚中的增加更为明显(图4)。可以推测  $\text{Ca}^{2+}$  能提高某些蛋白水解酶的活性, 并促进胚乳中的氨基酸向胚运输。但  $\text{Ca}^{2+}$  提高哪种蛋白水解酶的活性以及怎样提高仍不清楚。

可以认为  $\text{Ca}^{2+}$  提高种子活力的生理原因就是种子萌发的初期,  $\text{Ca}^{2+}$  促进了种子中贮藏物的动员及相关酶的活性。 $\text{Ca}^{2+}$  是一种廉价的信使物质, 深入研究种子萌发过程中  $\text{Ca}^{2+}$  与植物激素的相互作用,  $\text{Ca}^{2+}$  对基因表达的调节等, 对于提高种子活力、培育壮苗都具有重要的理论和实际意义。

### 参考文献

- 1 宋松泉, 傅家瑞. 种子萌发和休眠的调控. 植物学通报, 1993, 10(4):1-10
- 2 郝鲁宁, 余叔文. 植物细胞内信使及其功能. 余叔文主编. 植物生理与分子生物学. 科学出版社, 北京, 1992, 123-140
- 3 袁晓华, 杨中汉主编. 植物生理生化实验. 北京: 高等教育出版社, 1983, 19-23
- 4 夏叔芳, 於新建. 大豆叶片淀粉的降解及淀粉降解酶. 植物生理学报, 1989, 15(2):153-157
- 5 夏叔芳, 於新建, 苏丽英. 大豆叶片淀粉酶的特性. 植物生理学报, 1989, 15(1):41-45
- 6 黄学林, 陈润政等编. 种子生理实验手册. 北京: 农业出版社, 1990, 41-43
- 7 傅家瑞. 种子生理. 北京: 科学出版社, 1985, 376-393
- 8 Beck E, Ziegler P. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1989, 40:95-117
- 9 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 248-254
- 10 Fu J R et al. The physiological and biochemical bases of peanut seed vigor and viability. Fu J R, Khan A A (eds). In: *Advances in the Science and Technology of Seeds*. Science Press, Beijing, 1992, 79-90
- 11 Hepler P K, Wayne R O. Calcium and plant development. *Ann Rev Plant Physiol*, 1985, 36:397-439
- 12 Jones R L, Gilroy S, Hillmer S. The role of calcium in the hormonal regulation of enzyme synthesis and secretion in barley aleurone. *J Exp Bot*, 1993, 44:207-212
- 13 Rosen H. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch Biochem and Biophys*, 1957, 67:10-15
- 14 Roux S J. Calcium-regulated metabolism in seed germination. Taylorson R B(ed). In: *Recent Advances in the Development and Germination of Seeds*. Pleum Press, New York, 1989, 127-128