

## 种子耐脱水性的研究 (综述)

傅家瑞 宋松泉

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

**摘要:** 种子耐脱水性是近年植物生理学中的一个研究热点。本文综述种子发育、热稳蛋白、糖的积累以及抗氧化系统等与耐脱水性的关系, 同时针对顽拗性种子具有明显的对脱水的敏感性, 介绍了提高种子耐脱水性的可能途径。

**关键词:** 种子耐脱水性; 热稳蛋白; 糖积累; 抗氧化系统;

**中图分类号:** Q945.65 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-3395(2001)04-0345-10

## ADVANCES IN STUDY ON DESICCATION TOLERANCE OF SEEDS

FU Jia-rui SONG Song-quan

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

**Abstract:** Seed development, heat stable proteins, the accumulation of sugars, and antioxidative systems, which associate with seed desiccation tolerance, are reviewed. The storage of recalcitrant seeds is difficult due to their sensitivity to desiccation. The possible ways to increase desiccation tolerance for recalcitrant seeds are suggested.

**Key words:** Desiccation tolerance of seeds; Heat stable proteins; Accumulation of sugars; Antioxidative systems

正常性种子(orthodox seeds)在发育前期往往不耐脱水,而在发育的一定时期却耐脱水,这一变化对种子从发育状态转向萌发状态起着特殊开关作用<sup>[1]</sup>。从八十年代开始,这一领域的研究已成为植物发育生理学的一个热点。尽管种子脱水行为是调控发育的一个非常重要的问题,但迄今对引起种子脱水的原因、耐脱水性的形成及其消长、在脱水状态下细胞如何存活等问题还知道得很少。

一些学者认为,种子耐脱水性与某些特异蛋白如LEA蛋白(late embryogenesis abundant、胚胎发生后期的丰富蛋白)、dehydrin(脱水素)和可溶性糖类有关,并对LEA蛋白进行了大量的研究。可是,Vertucci和Farrant却指出,LEA蛋白的功能还不清楚,可能还有其他蛋白涉及耐脱水性<sup>[2]</sup>。耐脱水性的形成也与植物种类和发育时期密切相关,正常性种子发育初期不耐脱水,在发育中后期获得脱水耐性,而在萌发开始后却失去耐脱水性;顽拗性种子的发育缺乏成熟脱水阶段,种子一直对脱水敏感。为了探讨种子的耐脱水性,本文以正常性花生、玉米种子和顽拗性黄皮、荔枝、龙眼、芒果、木菠萝、枇杷等种子为实验材料,研究了种子耐脱水性的有关问题,以本实验室的工作

收稿日期: 2001-08-20

基金项目: 广东省自然科学基金(980360, 001224); 资助项目

为基础,并结合国际上有关的文献进行综述。

## 1 种子发育与耐脱水性的形成

果针入土后20 d (以DAP, days after pegging 表示)的花生胚轴(除去子叶)不具萌发能力,也不耐脱水。随着种子的发育,萌发率逐步提高,成熟时(65 DAP)的胚轴萌发率及活力指数均达到最大值,同时具有较高的耐脱水能力。可见种子的耐脱水性是在发育过程中逐步形成的。当发育中的胚轴或种子分别在缓慢或快速脱水时,所形成耐脱水性的程度明显不同。缓慢脱水是将胚轴放在含有不同饱和盐溶液的密闭容器内,使相对湿度(RH)逐步下降(4 d),最后在LiCl溶液(13%RH)中平衡2 d (25℃),快速脱水则是将胚轴直接密封于LiCl溶液中平衡6 d<sup>[3]</sup>。25和30 DAP的花生幼胚经缓慢脱水后萌发率分别提高到82%和95%,可是20 DAP的花生胚轴却无法诱导获得耐脱水性,也不能萌发<sup>[4]</sup>。

缓慢脱水可使35和45 DAP花生胚轴的耐脱水能力(以活力指数表示)分别增至3.75和4.30;如果改用快速脱水,则均未获耐脱水性。可是在45 DAP以后的发育胚(50–60 DAP胚),忍受快速脱水能力加强,即耐脱水力有所提高<sup>[4]</sup>。

花生胚轴的耐脱水性在发育中后期明显增加,而电解质渗漏率在整个发育时期逐步下降,表明细胞膜的耐脱水伤害能力逐步增加<sup>[4]</sup>。

玉米种子的生理成熟期是42 DAA(花后42 d, days after anthesis),此时干重达到最大值。随着种子的发育,含水量不断下降,在14–21 DAA时下降最快。21 DAA新鲜玉米胚已获得100%发芽率,但仍然不耐脱水,在25–28 DAA才获得耐脱水能力(伍贤进等,待发表),可见玉米种子的萌发能力先于耐脱水性的形成。

至于顽拗性种子,耐脱水性也随发育而变化;但与正常性种子不同,它们的耐脱水性低,而且在生理成熟后又复下降<sup>[5]</sup>。开花后46 d(46 DAA)的黄皮种子不能萌发,53 DAA种子只有40%萌发。当53 DAA种子脱水3 d后,萌发率可达100%<sup>[6]</sup>;至于60 DAA,67 DAA,74 DAA的新鲜种子萌发率均可达100%<sup>[5,7]</sup>。不同发育时期的黄皮种子,分别经过自然风干脱水,然后测定萌发率或活力指数(作为耐脱水性的指标),以67 DAA种子脱水敏感性最低,脱水9 d后仍有100%萌发率<sup>[5,7]</sup>。电解质渗漏率也可检测耐脱水性,完整种子的电解质渗漏率随发育而下降,而胚轴的电解质渗漏率则随发育至72 DAA一直降低,此后又复上升,表明用电解质渗漏率来表示耐脱水性的变化与用萌发率表示基本相同<sup>[8]</sup>。

## 2 热稳蛋白与耐脱水性

### 2.1 热稳蛋白

实验证明种子耐脱水性的获得与胚胎发育晚期表达的LEA蛋白有关<sup>[9–12]</sup>。在花生种子获得耐脱水性(45–65 DAP)的胚中,丰富表达的低分子量热稳蛋白出现,其中13.5 kD蛋白仅在花生种子55 DAP以后的胚胎发育晚期表达;缓慢脱水亦可诱导25和35 DAP胚表达该蛋白,其表达时期、耐热性、分子量范围及诱导特性均与LEA蛋白相似,这种低分子量蛋白很可能参与了花生种子耐脱水性的形成<sup>[9]</sup>。

热稳蛋白(heat stable proteins),或称热溶蛋白(heat soluble proteins),经100℃水浴煮10 min仍

处于稳定状态,在不耐脱水的25和35 DAP花生胚轴中亦存在,但含量较低,分别占可溶性蛋白的15.1%及30.6%。获得耐脱水性的40 DAP胚轴则含量为42%~44%,而65 DAP胚轴的热稳蛋白明显增加,当65 DAP经人工干燥脱水,热稳蛋白(54%)和脱水耐性(以发芽率作为耐脱水性指标)更有所提高,可见脱水耐性与热稳蛋白存在密切相关<sup>[13]</sup>(图1)。

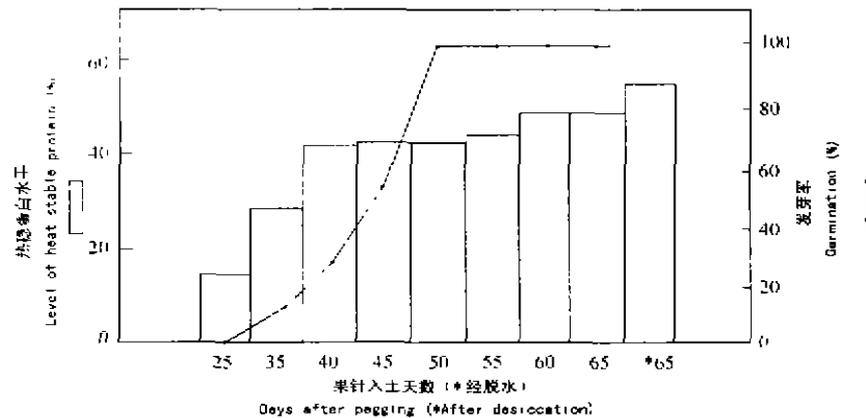


图1 不同发育时期花生种子萌发与胚轴热稳蛋白水平的变化<sup>[13]</sup>

Fig. 1 Changes in relative amounts of heat stable proteins extracted from peanut axes at different developmental stages in relation to seed germination

The levels of heat stable proteins are the ratio of heat stable protein to soluble protein<sup>[13]</sup>

在种子获得耐脱水能力的45~65 DAP的胚轴中,其热稳蛋白的组成不同于不耐脱水的25和35 DAP的胚轴,前者一组分子量为9.0~15.5 kD,等电点4.7~6.5的低分子量蛋白丰富表达,而后者则不具有这组蛋白<sup>[1]</sup>。35 DAP胚轴经缓慢干燥后出现两个新的低分子量多肽,其中13.5 kD(等电点5.0)多肽与胚胎发育晚期特异表达的热稳蛋白似为同一物质<sup>[3]</sup>。根据这一实验结果可以认为缓慢干燥(人为的)与成熟脱水(天然的)均可使胚胎发育晚期的热稳蛋白特异地表达。但Blackman等却认为单独LEA不足以诱导耐脱水性的形成<sup>[9]</sup>。应当还有更多的热稳蛋白参与<sup>[13]</sup>。

花生种子吸胀24 h或超过24 h的胚轴,胚根已突破种皮,此时经干燥后萌发能力丧失,亦即表明种子的耐脱水性消失<sup>[14]</sup>(图2)。在吸胀18~24 h内热稳蛋白含量也迅速下降,单、双向电泳结果均显示:吸胀24 h后,花生胚轴中大部分热稳蛋白消失<sup>[14]</sup>。

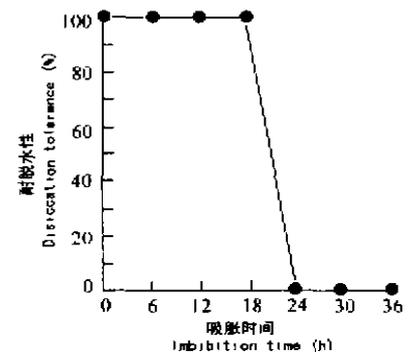


图2 花生种子吸胀后胚轴耐干性的变化<sup>[14]</sup>

Fig. 2 Changes in desiccation tolerance of peanut axes after imbibition<sup>[14]</sup>

## 2.2 贮藏蛋白的热稳定性

在正常性种子中,耐脱水性获得的时间大约在种子发育全过程的1/3至1/2时期<sup>[15,16]</sup>。当花生种子40 DAP胚轴耐脱水时,干物质的积累为最后干重的50%,贮藏蛋白的含量为最后含量的39%<sup>[17]</sup>。可见贮藏蛋白含量与耐脱水性存在一定关系。

Blackman等认为热稳贮藏蛋白具有保护功能<sup>[9]</sup>。花生胚轴蛋白的80%属于贮藏蛋白,热稳蛋白

在花生球蛋白中占57%,在伴花生球蛋白I中占72%,而在2S蛋白中占83%<sup>[4]</sup>。花生球蛋白(主要的贮藏蛋白)在发育过程中不耐热,但缓慢干燥可增加其热稳定性,而成熟花生胚特有的低分子量热稳蛋白有可能参与这个转录后的修饰过程<sup>[1]</sup>。有实验证明,耐热应激蛋白的结合可使那些本身并不耐热的蛋白质获得耐热能力<sup>[5]</sup>。

花生的贮藏蛋白经100℃ 10 min热处理后,不耐热花生球蛋白及伴花生球蛋白I均大量消失,而2S蛋白相对含量明显提高<sup>[9]</sup>(图3)。

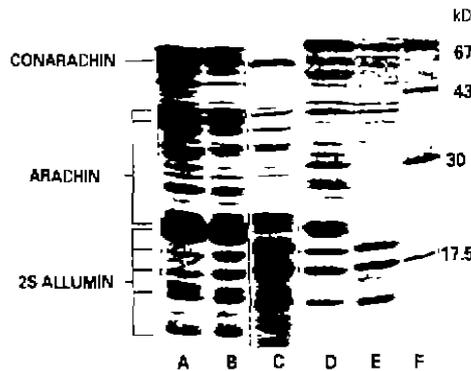


图3 花生脱脂粉以不同方法提取与纯化的SDS-PAGE<sup>[9]</sup>

Fig. 3 SDS-PAGE profiles of soluble protein extracted and purified from peanut defatted flour by different procedure<sup>[9]</sup>

A 高盐提取 High salt buffer extract (2 mol/L NaCl), B 低盐提取 Low salt buffer extract (0.5 mol/L NaCl), C 低盐提取后经100℃ 10 min加热, 2S蛋白增加75%~90%。2S protein purified by the low salt buffer extraction/heating procedure (100℃ for 10 min) The proportion of 2S albumin in storage proteins increased to 75%~90%, D 高盐提取及(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>沉淀 Purified by the high salt buffer extraction and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ppt; E 用Sephadex G-100凝胶纯化 Purified by Sephadex G-100 gel filtration; F 标准物 Markers

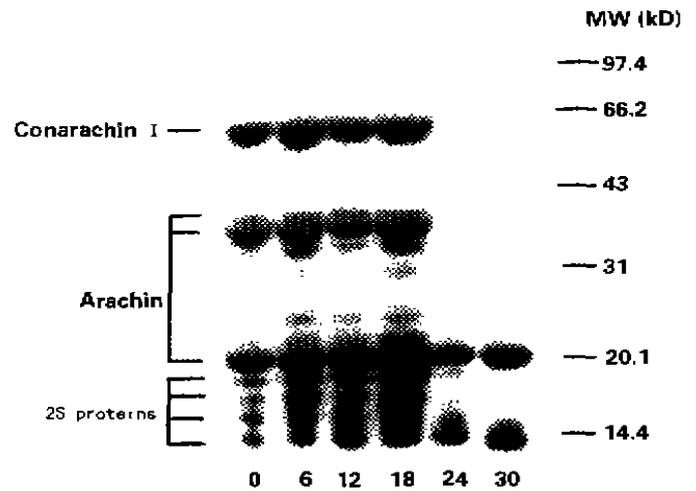


图4 萌发花生胚轴中热稳定蛋白的SDS-PAGE

Fig. 4 SDS-PAGE of heat-stable proteins from axes of germinating peanut seeds<sup>[10]</sup>

The molecular weight markers are rabbit phosphorylase b (97.4 kD), bovine serum albumin (66.2 kD), rabbit actin (43 kD), bovine carbonic anhydrase (31 kD), trypsin inhibitor (20.1 kD) and hen's egg white lysozyme (14.4 kD)

SDS-PAGE测定表明,吸胀0~18 h,花生胚轴热稳蛋白组成没有明显变化;但吸胀24 h后,胚轴中的花生球蛋白38.5 kD和41 kD两大亚基、伴花生球蛋白I的60.5 kD亚基被显著地降解,而21 kD和12 kD蛋白直至吸胀30 h仍存在(图4)。双向电泳表明,胚轴热稳蛋白组成在种子吸胀18 h内变化不明显,而到吸胀24 h时各种热稳蛋白几乎完全消失,与此同时胚轴的耐脱水性也完全消失<sup>[11]</sup>。

### 2.3 热稳的蛋白酶抑制剂

花生胚轴和子叶的热稳蛋白中存在胰蛋白酶抑制剂,它们具有高度的热稳定性,能耐100℃ 10 min,或在室温下25 d而不变性。用同位素<sup>3</sup>H-Leu及<sup>3</sup>H-Tyr示踪表明,该抑制剂含量随花生种子的发育而变化,在45 DAP胚轴中达到高峰<sup>[12]</sup>。不论是发育中的还是吸胀中的胚轴,一经脱水,胰蛋白酶抑制剂则成倍地增加(表1),看来胰蛋白酶抑制剂与脱水机理存在密切关系。大豆种子中胰蛋白

酶抑制剂也是在发育早期逐渐积累而在中期迅速合成<sup>[20]</sup>,其合成趋势与花生种子相似。

表1 发育中与吸胀后花生胚轴在脱水下胰蛋白酶抑制剂含量的变化  
Table 1 Changes in trypsin inhibitors in developmental and imbibitional peanut axes

		抑制活性 Inhibitory activity	
		(Unit of inhibitory activity g <sup>-1</sup> defatted powder)	
		脱水前 Before desiccation	脱水后 After desiccation
果针入土天数	30	27.0	155.1
Days after pegging	35	452.0	4611.1
	45	592.5	7934.5
	55	199.1	8156.4
	65	173.3	9106.1
	吸胀时间	12	344.3
Imbibition times (h)	15	306.6	1285.6
	18	284.7	833.9
	21	225.8	504.8
	24	171.7	327.7

蛋白酶抑制剂与贮藏蛋白之间关系密切<sup>[21-23]</sup>。Ryan<sup>[24]</sup>及Taeneem等<sup>[25]</sup>则认为蛋白酶抑制剂可视为种子的贮藏蛋白。

在提出热稳蛋白的基础上,本实验室在贮藏蛋白及蛋白酶抑制剂上做了一些研究,但我们对热稳蛋白的多样性认识还远远不够,有待今后进行更深入与广泛的工作。

### 3 糖的积累与耐脱水性

随着种子的发育,花生胚轴耐脱水性提高,蔗糖、水苏糖等非还原性糖含量增加,还原性糖含量下降,还原性糖/非还原性糖比值降低。未成熟胚轴(如25-35 DAP)的可溶性糖主要是蔗糖和麦芽糖,而未检测到寡糖;经缓慢干燥亦可提高蔗糖和寡糖的含量以及降低还原性糖(如麦芽糖)的含量<sup>[13]</sup>。非还原性糖的积累又可增加蛋白的热稳定性<sup>[26]</sup>。差示扫描量热法(differential scanning calorimetry)分析表明,模拟成熟花生胚轴(耐脱水)可溶性糖组分的混合物可在较高温度(T<sub>g</sub>值为11.1℃)下玻璃化,而不耐脱水胚轴的模拟混合物的玻璃化转变温度较低(T<sub>g</sub>值为-5.2℃),表明脱水耐性与细胞质形成玻璃化状态有关<sup>[26]</sup>。有关实验表明,种子在较高温度下进入玻璃化状态有利于避免脱水对细胞的伤害<sup>[27]</sup>。在花生实验中,寡糖的存在可提高T<sub>g</sub>值,使种子或胚轴在较高温度范围内进入玻璃化状态<sup>[14]</sup>。

花生胚轴中主要的寡糖是水苏糖,由25 DAP的零增至65 DAP的6.12 mg g<sup>-1</sup>;麦芽糖是花生胚轴的主要还原性糖,随种子成熟其含量逐渐下降。当65 DAP种子施加脱水处理10 d,蔗糖含量增加一倍(约86.2 mg g<sup>-1</sup>)。子叶中可溶性糖的变化趋势与胚轴相同。35 DAP花生种子经缓慢干燥处理6 d,胚轴寡糖与蔗糖含量显著增加 10<sup>-5</sup> mol/L外源ABA加高渗处理亦可诱导35 DAP离体胚轴累积寡糖。反之,这些处理可降低胚轴的还原性糖<sup>[28]</sup>。至于顽拗性黄皮种子,在发育前期子叶中含有较高的葡萄糖和麦芽糖,而果糖、蔗糖和水苏糖含量较低,当种子成熟时,即花后74 d的胚轴,葡萄糖、麦芽糖显著减少,而蔗糖、寡糖(棉子糖与水苏糖之和)及寡糖/蔗糖(O/D)的比值均明显升高;随着种子

的萌发,蔗糖、寡糖消失<sup>[7]</sup>。

寡糖的存在可使种子或胚轴在较高温度范围内进入玻璃化状态,避免脱水对细胞的伤害<sup>[27]</sup>、缓慢脱水及成熟脱水均可增加花生胚轴热稳蛋白及积累大量可溶性糖<sup>[13]</sup>。非还原性糖(二糖及寡糖)的积累增加了花生蛋白质的稳定性,稳定了蛋白质在脱水状态下的结构与功能。在耐脱水机理中,热稳蛋白与糖的协同作用有待进一步研究。

#### 4 抗氧化系统与耐脱水性

Côme和Corbineau综述了顽拗性种子在脱水过程中伴随发生的不协调代谢而产生大量自由基,是主要的伤害因子<sup>[28]</sup>。顽拗性种子具有抗氧化机理<sup>[29,30]</sup>,可是在脱水状态下,这一防卫机理渐渐变得无效,而自由基却愈来愈积累,这是脱水敏感性的主要原因<sup>[11]</sup>。

植物细胞对自由基的清除主要通过超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶系统,以保护质膜不受自由基的攻击,避免膜脂过氧化和膜透性加大。在轻微脱水下(含水量40%–50%),开花后71 d的黄皮胚轴的SOD、POD活性略为增加,随后进一步脱水而下降;CAT活性则在整个脱水过程中逐步下降;而丙二醛(MDA)含量则迅速增加<sup>[12]</sup>。顽拗性枇杷种子的SOD、POD活性在脱水下不断下降,而MDA及种子浸泡液的电导率不断增加<sup>[19]</sup>。可是,花生胚轴的活性氧清除酶在轻度脱水时增加,在进一步脱水下活性仍能维持在较高水平;而MDA含量却是缓慢增加<sup>[31,32]</sup>。

至于膜脂过氧化与膜透性变化,在轻度脱水下,黄皮胚轴电解质渗漏量明显增加<sup>[8,33]</sup>;而花生胚轴在含水量从45%降至14%过程中,电解质渗漏率没有明显增加,MDA含量只有少量增加;直至含水量降至14%以下,电解质渗漏率才出现少量增加<sup>[32]</sup>。可见顽拗性与正常性种子在脱水过程中抗氧化系统所发生的变化不同。

枇杷种子在脱水初期,电导率增加缓慢,在脱水后期则迅速增加,可见在脱水伤害过程中,膜结构发生改变,膜透性增加<sup>[19]</sup>。膜系统显然是脱水伤害的靶子<sup>[12,33]</sup>。

适当浓度的AsA(抗坏血酸)、GSH(还原性谷胱甘肽)和Ca<sup>2+</sup>能显著提高枇杷种子的发芽率和活力指数;在脱水下能提高SOD活性而降低MDA含量,这表明AsA、GSH及Ca<sup>2+</sup>能有效地减缓膜脂过氧化作用,从而提高种子活力<sup>[30]</sup>。AsA和甘露醇是活性氧的清除剂,它们能降低脂质过氧化作用,提高种子发芽率和发芽指数,并降低MDA及脂质氢过氧化物含量<sup>[35]</sup>。

自由基伤害应是脱水敏感性发生的首要因素,而寡糖与热稳蛋白的保护作用都是以防御自由基伤害为前提的<sup>[36]</sup>。至于三者之间的联系还有待进一步研究。

#### 5 提高种子耐脱水性的途径

正常性种子成熟时具有脱水耐性,为种子贮藏提供了良好的前提条件。可是,顽拗性种子即使达到成熟期仍具较高含水量,而且也不耐脱水,这类种子很难贮藏。对脱水敏感的种子,怎样才能提高其脱水耐性?下面将讨论这个问题。

##### 5.1 几种试剂的诱导作用

黄皮种子经室温部分地脱水,当其含水量下降至40%时,活力指数明显下降。脱水前经脱落酸

(ABA)( $10^{-5}$  mol/L)或 $\text{Ca}^{2+}$ ( $10^{-3}$  mol/L)预处理后,能提高活力指数约20%,再结合PEG(聚乙二醇)引发,则活力指数大幅提高,特别是 $10^{-3}$  mol/L  $\text{Ca}^{2+}$ 处理结合PEG引发的效果显著,活力指数提高到138%<sup>[37,38]</sup>。用0.1 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ 处理枇杷种子亦能明显地提高SOD活性和降低MDA含量,较大幅度提高劣变种子的发芽率和活力指数;用适当浓度的AsA和GSH处理枇杷种子也能提高SOD活性和活力指数<sup>[39]</sup>。

用0.01% 茶多酚预处理后进行脱水,然后在PEG(-1.0 - -1.5 MPa)及15℃下引发2 d,黄皮种子的活力指数提高40%以上,种子耐脱水性也有所提高<sup>[37]</sup>。

KCN(氰化钾)预处理可有效地降低黄皮种子的脱水敏感性,其浓度以10 mmol/L为最适,50 mmol/L为致死浓度。当黄皮种子脱水至约40%时,与对照相比,KCN预处理可提高种子活力2倍;而当脱水至约30%时,可提高20倍以上。经KCN预处理的黄皮胚轴在脱水过程中呼吸速率下降,而在重新吸胀过程中能迅速恢复并超过对照胚轴的。用KCN和KCN+SHAM(salicyl hydroxamic acid,水杨氧肟酸)处理黄皮离体线粒体,发现线粒体的抗氰呼吸途径占总呼吸的14%。KCN预处理可延缓脱水对膜及线粒体的伤害<sup>[6,38]</sup>。

KCN预处理可降低 $\text{O}_2^-$ 的产生速率、MDA水平以及有机自由基水平,提高SOD、CAT、GR(谷胱甘肽还原酶)活性以及GSH含量,有利于自由基的清除<sup>[38]</sup>。

## 5.2 提高胚轴的耐脱水性

为有利于顽拗性种子的种质保存,Roberts提出液氮法<sup>[39]</sup>。要使不耐脱水的顽拗性种子能经受超低温贮藏,必须降低其含水量。尽管离体胚或胚轴可耐较低含水量,但顽拗性种子的胚(胚轴)仍然脱水敏感性较高。

实验表明,黄皮离体胚轴能耐受的含水量低于整粒种子<sup>[40]</sup>,这与其他的顽拗性种子的贮藏行为相同<sup>[41]</sup>。在培养过程中生物体包括种胚,适宜水平的可溶性糖有助于耐脱水性的提高<sup>[42,43]</sup>。蔗糖预处理可增强橡胶<sup>[44]</sup>及其他种类<sup>[45]</sup>的胚的耐脱水性。

蔗糖预处理可改善黄皮胚轴的耐脱水能力<sup>[36-48]</sup>。经梯度蔗糖预培养的黄皮胚轴,轻微脱水可提高活力指数,降低胚轴的致死含水量,诱导提高耐脱水性<sup>[46]</sup>。可是,黄雪梅等却发现随着蔗糖浓度由3%提高到35%时,胚芽便受到伤害,无芽的畸形苗增多,而正常苗减少<sup>[47]</sup>;尽管如此,下胚轴和根原基的耐脱水性却增强<sup>[48]</sup>。

在脱水情况下,黄皮胚芽较胚轴的其他部位更为敏感,易引致死亡。可是,当胚轴预先培育于WPM(wood plant media,木本植物培养基)培养基上经2-3周,所获得的萌动胚轴,其胚芽却较胚根更耐脱水。当用硅胶使萌发胚轴脱水至47%时,60%幼苗无根,30%幼苗失活,而只有10%幼苗正常。随着脱水程度加大,胚根与芽-下胚轴部分的脱水速度差别越来越显著。当脱水10 h时,芽-下胚轴含水量仍有63%(脱水前为81%),而根的含水量却下降至7%(脱水前为84%),可见萌发胚轴的根受脱水伤害的原因是脱水过于严重<sup>[48]</sup>。当萌发胚轴培育在WPM并从低至高顺序给予梯度蔗糖(27%→55%→60%)处理使其含水量下降至37%,此时正常苗仍保持100%,不出现无根畸形苗。如萌发胚轴经60%梯度蔗糖处理2 d后再用硅胶干燥12 h,含水量虽然显著下降至18%,但仍有57%缺根幼苗存活<sup>[48]</sup>。切去萌发胚轴的萎蔫幼根后培育于WPM中,再加入NAA(萘乙酸)( $10 \text{ mg L}^{-1}$ )及IBA(吲哚丁酸)( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ),在切面处可以诱导产生不定根<sup>[48]</sup>。

### 5.3 快速脱水可降低顽拗性种子的脱水敏感性

正常性花生种子在发育早期进行脱水时,缓慢脱水可诱导耐脱水性的形成,而快速脱水则常使种子发芽率下降以致死亡。可是顽拗性种子却恰好相反,脱水速率越快,胚轴的半致死含水量就越低;快速脱水的胚轴能在较低的含水量下存活。黄皮胚轴的快速脱水( $1.15 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1}\text{DW h}^{-1}$ ),其致死含水量为 $0.09 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1}\text{DW}$ ,而缓慢脱水的致死含水量却是 $0.24 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1}\text{DW}$ 。快速脱水能在较低含水量的胚轴中维持较高的SOD、POD及CAT酶活性(伍贤进等,待发表)。一些学者也指出,快速脱水能明显降低顽拗性种子离体胚轴的致死含水量<sup>[49-51]</sup>。

Pammenter等指出,顽拗性种子在脱水中出现两种类型的伤害,一是严格的脱水伤害(strict desiccation damage),二是水介导的氧化伤害(aqueous-based oxidative damage),前者在大量失水时发生,引起大分子结构的伤害;而后者则在中等含水量时发生,是一种不受调控的代谢结果<sup>[1]</sup>。当胚轴处于中等含水量时,发生不受控制的氧化反应,导致脱水伤害<sup>[17,52]</sup>。离体胚轴迅速脱水,缩短了在中等含水量下水介导的膜脂过氧化,减少水介导的有害反应<sup>[17,51]</sup>。

## 6 结束语

成熟脱水是调节种子发育和萌发转变的主要因子,但对其启动信号以及种子中的信号受体仍然不清楚。脱水耐性可能是由多种因子调控的数量性状<sup>[1]</sup>,在如此错综复杂的因子中要找出各种有效方法来诱导,使种子具有耐脱水性,是一项具有挑战性的任务。深入研究这些问题以提高顽拗性种子的耐脱水性,提高农作物种子品质均具有十分重要的意义。

### 参考文献:

- [1] Kernode A R. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination [J]. *Critical Reviews in Plant Science*, 1990, 9:155-195.
- [2] Vertucci C W, Farrar J M. Acquisition and loss of desiccation tolerance [A]. In: Galili G, Kigel J. *Seed Development and Germination* [C]. New York: Marcel Dekker Inc., 1995, 237-273.
- [3] 杨晓泉,姜孝成,傅家瑞.花生种子耐脱水力的获得与热稳定蛋白的关系[J]. *植物学报*, 1998, 40:337-342.
- [4] 杨晓泉,姜孝成,傅家瑞.花生种子耐脱水力的获得与膜透性、水分状态的关系[J]. *中山大学学报*, 1998, 37:78-82.
- [5] Fu J R, Jin J P, Peng Y F, et al. Desiccation tolerance of two species of recalcitrant seeds in relation to development [J]. *Seed Sci Res*, 1994, 2:257-261.
- [6] Fu J R, Xiang X, Song S Q, et al. Desiccation tolerance of recalcitrant wampee seed associated with developmental status and its enhancing by pretreatments [A]. In: Marzalina M, Khoo K C, Jayanthi N, et al. "Recalcitrant Seeds", *Proceedings of IUFRO Seed Symposium 1998* [C]. Kuala Lumpur: FRIM, 1999, 215-223.
- [7] 陆旺余,姜孝成,金剑平,等.黄皮种子脱水敏感性与胚轴中可溶性糖含量的关系[J]. *植物生理学报*, 2001, 27:162-166.
- [8] 姜孝成,傅家瑞,黄胜琴.黄皮种了发育过程脱水敏感性与细胞膜透性的关系[J]. *植物学报*, 1996, 38:725-729.
- [9] Blackman S A, Wettlaufer S H, Obendorf R L, et al. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean [J]. *Plant Physiol*, 1991, 96:868-874.
- [10] Reid J L, Walker-Simmons M K. Group 3 late embryogenesis abundant proteins in desiccation-tolerant seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant Physiol*, 1993, 102:125-131.
- [11] Dure L III, Crouch M, Harada J, et al. Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants [J]. *Plant Mol Biol*, 1989, 12:475-486.
- [12] Close T J, Kortt A A, Chandler P M. A cDNA-based comparison of dehydration-induced proteins (dehydrins) in barley and corn [J]. *Plant Mol Biol*, 1989, 13:95-108.

- [13] Fu J R, Yang X Q, Jiang X C, et al. Heat stable proteins and desiccation tolerance in recalcitrant and orthodox seeds [A]. In: Ellis R H, Black M, Mursdoch A J, et al. Basic and Applied Aspects of Seed Biology [C]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997, 705-713.
- [14] 黄上志, 王冬梅, 卢春斌, 等. 萌发中花生胚轴的耐干性与热稳定蛋白[J]. 植物生理学报, 1999, 25: 193-198.
- [15] Bartels D, Singh M, Salamini F. Onset of desiccation tolerance during development of the barley embryos [J]. *Planta*, 1988, 175: 485-492.
- [16] Kermode A R. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment [A]. In: Galili G, Kigel J. Seed Development and Germination [C]. New York: Marcel Dekker, Inc., 1995, 273-332.
- [17] 黄上志, 傅家瑞. 花生种子的发育与贮藏蛋白质合成和积累[J]. 植物生理学报, 1992, 18: 142-150.
- [18] Minton K W, Karmin P, Hahn G H, et al. Nonspecific stabilization of stress-susceptible polypeptides by stress-resistant polypeptides: A model for the biological role of heat shock polypeptides [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79: 7107-7111.
- [19] Fu J R, Huang S Z, Yang X Q, et al. Heat stable proteins associated with seed desiccation tolerance [A]. In: Taylor A G, Huang X L. Progress in Seed Research [C]. USA: Cornell University, 1998, 101-108.
- [20] Mc Grain A K, Chen J C, Wilson K A, et al. Proteases catalysing processing and degradation of Kunitz soybean trypsin inhibitor during seed maturation [J]. *Phytochem*, 1992, 31: 421-426.
- [21] 文方德, 傅家瑞. 植物种子的蛋白酶抑制剂及其生理功能 [J]. 植物生理学通讯, 1997, 33: 1-9.
- [22] Lorenese E, Prevosto R, Wilson K A. The appearance of new active forms of trypsin inhibitor in germinating mung bean (*Vigna radiata*) seeds [J]. *Plant Physiol*, 1981, 68: 88-92.
- [23] Spencer M E, Hodge R. Cloning and sequencing of the cDNA encoding the major albumin of *Theobroma cacao* [J]. *Planta*, 1991, 183: 528-535.
- [24] Ryan C A. Proteolytic enzymes and their inhibitors in plants [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1973, 24: 173-196.
- [25] Tasneem M, Cornford C A, McManus M T. Characterization of serine proteinase inhibitors in dry seeds of cultivated pasture grass species [J]. *Seed Sci Res*, 1994, 4: 335.
- [26] 杨晓泉, 姜孝成, 傅家瑞. 花生种子耐脱水性形成与可溶性糖积累的关系[J]. 植物生理学报, 1998, 24: 165-170.
- [27] Bruni F, Leopold A C. Glass transition in soybean seed. Relevance to anhydrous biology [J]. *Plant Physiol*, 1991, 99: 488-494.
- [28] Côme D, Corbineau F. Metabolic damage related to desiccation sensitivity [A]. In: Ouedraogo A-S, Poulson K, Stubsgaard F. Intermediate/recalcitrant Tropical Forest Tree Seeds [C]. Rome: IPGRI, 1996, 83-97.
- [29] Hendry G A F, Finch-Savage W E, Thorpe P C, et al. Free radical processes and loss of viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. [J]. *New Phytologist*, 1992, 122: 273-279.
- [30] Finch-Savage W E, Grange R L, Hendry G A F, et al. Embryo water status and loss of viability during desiccation in the recalcitrant seed species *Quercus robur* L. [A]. In: Côme D, Corbineau F. Basic and Applied Aspects of Seed Biology [C]. Paris: ASFIS, 1993, 723-730.
- [31] Panmenter N W, Berjak P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms [J]. *Seed Sci Res*, 1999, 9: 13-37.
- [32] Wang Y, Li S S, He J X, et al. Changes in activity of reactive-oxygen-scavenging enzymes in recalcitrant wampee (*Clausena lan-vium*) seeds during desiccation [J]. *Acta Phytophysiol Sin*, 2001, 27: 81-86.
- [33] 陈俊松, 陈润政, 傅家瑞. 枇杷种子的脱水敏感性与膜脂过氧化作用 [J]. 植物生理学报, 1999, 25: 369-374.
- [34] 宋松泉, 傅家瑞, 夏伟. 花生种子的人工老化与膜脂过氧化的研究 [J]. 中国油料, 1992, (3): 31-34.
- [35] 宋松泉, 傅家瑞. 黄皮种子脱水敏感性与脂质过氧化作用 [J]. 植物生理学报, 1997, 23: 163-168.
- [36] Leprince O, Vertucci C W, Hendry G A F, et al. The expression of desiccation-induced damage in orthodox seeds is a function of oxygen and temperature [J]. *Physiol Plant*, 1995, 94: 233-240.
- [37] 向旭, 傅家瑞. 提高黄皮种子活力的途径 [J]. 热带亚热带植物学报, 1997, 5: 39-44.
- [38] 向旭, 文方德, 傅家瑞. 氰化钾预处理对黄皮种子脱水敏感性的影响 [J]. 植物生理学报, 1999, 25: 381-387.

- [39] Roberts E H, King M W, Eillis R H. Recalcitrant seeds: their recognition and storage [A]. In: Holden J A, Williams J T. Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation [C]. London: George Allen & Unwin, 1984, 38-52.
- [40] Fu J R, Zhang B Z, Wang X F, et al. Studies on desiccation and wet storage of four recalcitrant seeds [A]. International Symposium on Horticultural Germplasm of Cultivated and Wild Fruit Trees. Part 1 [C]. Beijing: International Academic Publishers, 1989, 121-125.
- [41] Berjak P, Farrant J M, Mycock D J, et al. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: the enigma of their desiccation-sensitivity [J]. Seed Sci Technol, 1990, 18:297-310.
- [42] Crowe J H, Crowe L M, Chapman D. Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms: the role of trehalose [J]. Science, 1984, 223:701-703.
- [43] Leopold A C, Brunt F, Williams R T. Water in dry organisms [A]. In: Somero G N, Osmond C B, Bolis C L. Water and Life [C]. Berlin: Springer-Verlag, 1992, 161-173.
- [44] Yap L V, Hor Y L, Normah M N. Effects of sucrose preculture and subsequent desiccation on cryopreservation of alginate-encapsulated *Hevea brasiliensis* embryos [A]. In: Marzalina M, Khoo K C, Jayanthi N, et al. Proceedings of IUFRO Seed Symposium 1998. "Recalcitrant Seeds" [C]. Kuala Lumpur: FRIM, 1999, 140-143.
- [45] Dumet D, Berjak P. Desiccation tolerance and cryopreservation of embryonic axes of recalcitrant species [A]. In: Ellis R H, Black M, Murdoch A J, et al. Basic and Applied Aspects of Seed Biology [C]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997, 771-776.
- [46] 陆旺金, 傅家瑞. 黄皮胚轴耐脱水性的诱导[J]. 中山大学学报, 1997, 36:118-120.
- [47] 黄雪梅, 傅家瑞, 宋松泉. 黄皮胚轴脱水敏感性与成苗[J]. 中山大学学报, 2000, 39:87-90.
- [48] Fu J R, Huang X M, Song S Q. Manipulation of desiccation-sensitive axes of wampee (*Clausena lunsum*) to facilitate increased dehydration tolerance [J]. Seed Sci Res, 2000, 10:397-400.
- [49] Berjak P, Vertucci C W, Pammenter N W. Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis* [J]. Seed Sci Res, 1993, 3:155-166.
- [50] Pammenter N W, Vertucci C W, Berjak P. Homoiohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Lambolpha kirkij* [J]. Plant Physiol, 1991, 96:1093-1098.
- [51] Pammenter N W, Berjak P, Walters C. The effect of drying rate on recalcitrant seeds: 'Lethal water contents', causes of damage, and quantification of recalcitrance [A]. In: Black M, Bradford K J, Vazquez-Ramos J. Seed Biology: Advances and Applications [C]. UK: CABI Publishing, 2000, 215-221.
- [52] Leprince O, Hendry G A F, Atherton N M, et al. Free radicals and metabolism associated with acquisition and loss of desiccation tolerance in developing seeds [J]. Biochem Soc Transactions, 1996, 24:451-455.
- [53] Berjak P, Pammenter N W. Progress in the understanding and manipulation of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds [A]. In: Ellis R H, Black M, Murdoch A J, et al. Basic and Applied Aspects of Seed Biology [C]. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1997, 689-703.
- [54] Pritchard H W, Manger K R. A calorimetric perspective on desiccation stress during preservation procedures with recalcitrant seeds of *Quercus robur* L. [J]. Cryoletters, 1998, 19 (supplement 1):23-30.