Ca^{2+}对大豆种子及其胚轴脱水伤害的修复研究

蒋昌华[1,3],张利平[1],宋松泉[2],陈润政[1]

(1.中山大学生命科学学院,广东广州 510275;2.云南省西双版纳热带植物园,云南勐腊 666303;3.上海植物园,上海 200231)

摘要　通过Ca^{2+}对大豆种子及胚轴脱水伤害的修复研究,证明Ca^{2+}是一种脱水伤害的保持性物质。EDTA和EGTA能在不同程度上抑制Ca^{2+}的这种修复作用,它们的使用从另一角度进一步说明Ca^{2+}对脱水伤害具有修复作用。

关键词　大豆;种子;胚轴;脱水伤害;Ca^{2+}修复

中图分类号　S565.1　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　0517-6611(2005)06-0952-03

Research on Dehydration Damage and its Ca^{2+} Repair in Imbibed Soybean Seeds

JIANG Chang-hua et al (School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou,Guangdong 510275)

Abstract　It has been proved that Ca^{2+} is one of protective materials to dehydration damage by the research on dehydration damage and its repair in imbibed soybean seeds and its seedling. EDTA and EGTA can cut down the repair effect of Ca^{2+} respectively, which had further testified Ca^{2+} could repair the dehydration damage from another point of view. This would be a base for research on repair mechanisms of dehydration damage.

Key words　Soybean;Seed;Seedling;Dehydration damage;Ca^{2+} repair

根据贮藏特性可以将种子分为正常性种子和顽拗性种子[1]。正常性种子在发育过程中形成了一系列脱水伤害的保护机制,如积累一些与脱水耐性有关的保护性物质,主要有糖、蛋白质和自由基清除系统等,它们保护亚细胞结构和授于细胞最大脱水耐性[2]。但在萌发过程中这些保护机制逐步丧失。外加脱水保护性物质可提高种子的脱水耐性,如Ca^{2+}就是其中的一种。宋松泉等[3]指出,Ca^{2+}能增加胚和胚乳的α-、β-淀粉酶活性,加速胚乳中淀粉和可溶性蛋白的动员。糊粉层(水稻)的α-淀粉酶的合成也依赖Ca^{2+},这是因为α-淀粉酶是一类Ca^{2+}结合蛋白,高浓度的Ca^{2+}是维持α-淀粉酶结构和功能必不可少的因子。刘箭等[4]发现用浓度1 mmol/L的Ca^{2+}处理黄皮种子48 h,可以增加其脱水后的活力。干旱胁迫下,适当浓度Ca^{2+}可以提高萌发小麦的α-淀粉酶和POD活性、呼吸作用和发芽率等[5]。Ca^{2+}有延缓衰老的作用,用Ca^{2+}预处理黄皮种子2 d,回干4 d后再用PEG引发,种子的活力提高[6]。Ca^{2+}充当第二信使,参与植物细胞对外界刺激如植物激素、光、低温、盐胁迫等的反应。但Ca^{2+}对预吸胀种子和胚轴脱水伤害的修复机理尚待进一步研究。

1　材料与方法

供试大豆"矮脚早"(*Glycine max* L. Aijiaozao)种子,购于中国农科院油料作物研究所,于15 ℃条件下保存备用。

1.1　脱水对大豆胚轴的脱水伤害　种子预吸胀24、32和48 h后,取胚轴装入自制的纱布网栏中,在活化硅胶上分别脱水0、2、4、6、8和12 h,然后进行脱水耐性分析(存活率、电解质渗漏速率和存活胚轴的幼苗生长量的测定)。电解质渗漏速率的测定是将15棵处理后的胚轴加30 ml去离子水,立即用DDS-11A型电导率仪测定电导率,定为初值。3 h后再测终值(测定温度均为20 ℃,每隔30 min摇动1次),终值与初值之差为净电导率。取出胚轴干燥,以每克干物质占有的净电导率计算电解质渗漏速率。

1.2　Ca^{2+}对大豆种子活力的影响　各选取30粒种子,分别加入浓度0、0.5、1、2.5、5、10、20和40 mmol/L的$CaCl_2$溶液20 ml,20 ℃暗中培养5 d后测其幼苗的鲜重、长度和萌发率。

1.3　Ca^{2+}对大豆胚轴脱水伤害的修复　从预吸胀32 h的种子中取出胚轴,在活化硅胶中脱水6 h后分别用浓度0、2.5、5、10、20和40 mmol/L的$CaCl_2$溶液培养,20 ℃暗中培养5 d后测其幼苗的鲜重、长度和胚轴存活率。

1.4　Ca^{2+}对不同程度脱水伤害的大豆胚轴的修复　大豆种子预吸胀32 h后,其胚轴在活化硅胶中分别脱水0、2、4、6、8、10、12和14 h,然后用浓度10 mmol/L的$CaCl_2$溶液培养,20 ℃暗中培养,检测方法同1.3。

1.5　螯合剂EDTA和EGTA对Ca^{2+}修复作用的影响　预吸胀32 h的大豆种子胚轴,在活化硅胶中脱水6 h后,分别加入EDTA溶液(浓度0、2.5、5、10、20和40 mmol/L),EDTA+浓度5 mmol/L Ca^{2+}和EDTA+浓度10 mmol/L Ca^{2+}。检测方法同1.3。以上实验均采用3次重复。

2　结果与分析

2.1　脱水对大豆胚轴脱水耐性的影响　预吸胀32 h的大豆种子,其胚轴经过0、2、4、6、8和12 h的脱水。随着脱水时间的延长,其胚轴脱水后的电解质渗漏速率逐渐增高,胚轴的存活率以及由存活胚轴产生的幼苗的生长量逐渐下降(表1)。表明脱水时间越长,种子在脱水过程中脱水耐性丧失越严重。其中脱水6 h时,其存活率已低至50.6 %,表明这个程度的脱水已经对其构成严重的伤害,故用于Ca^{2+}修复的材料都采用预吸胀32 h、脱水6 h的胚轴。

2.2　Ca^{2+}对大豆种子萌发的影响　结果显示(图1、2),在浓度0~5 mmol/L范围内,Ca^{2+}明显地促进大豆种子萌发,吸胀5 d后,其萌发率和生长量明显比对照高。浓度1 mmol/L的Ca^{2+}对大豆种子的萌发促进作用最为明显。当浓度高于5 mmol/L时,随着浓度的增大,Ca^{2+}的促进作用逐渐减弱;浓度继续加大时,Ca^{2+}表现出抑制种子的萌发和生长。

表1　预吸胀32 h的大豆胚轴的脱水耐性变化

脱水时间 h	电解质渗漏速率 μs/(cm·g·h)	幼苗长度 cm	幼苗鲜重 g	存活率 %
0	60.2±2.9	155.1±22.3	3.22±0.37	97.8±1.9
2	89.9±9.2	125.1±3.5	3.01±0.03	86.7±0
4	145.6±9.4	82.6±12.9	2.03±0.25	77.8±2.6
6	147.5±13.6	33.6±2.1	1.00±0.06	50.6±3.1
8	190.7±12.2	5.37±1.1	0.83±0.04	8.9±1.1
12	242.2±21.2	0.6±0.04	0.12±0.02	1.1±0.2

作者简介　蒋昌华(1967-),男,江西广丰人,硕士,工程师,从事植物抗性生理研究。

收稿日期　2005-04-26

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

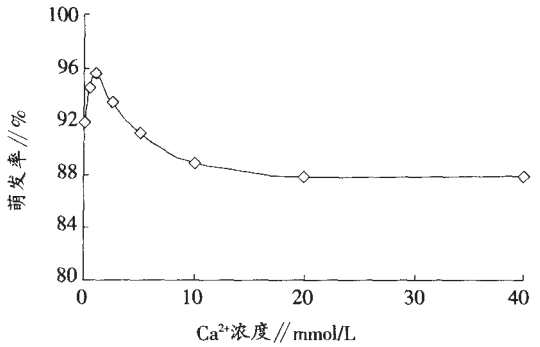

图 1　Ca^{2+}对大豆种子萌发的影响

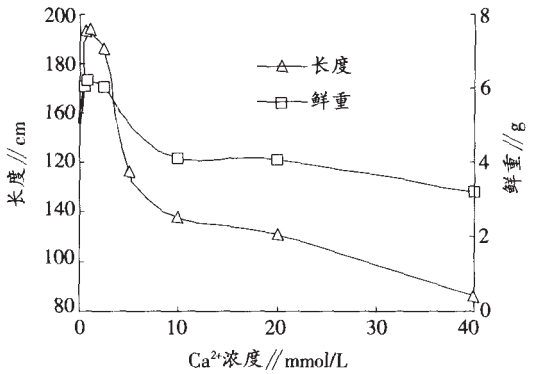

图 2　Ca^{2+}对大豆幼苗生长的影响

2.3　Ca^{2+}对大豆胚轴脱水伤害的修复　预吸胀 32 h 大豆胚轴在活化硅胶中脱水 6 h 后，分别用浓度 0、2.5、5、10、20 和 40 mmol/L 的 Ca^{2+}培养，5 d 后胚轴的存活率和生长量见图 3、4。在浓度 0~10 mmol/L，随着 Ca^{2+}浓度的增加，Ca^{2+}对大豆胚轴脱水伤害的修复作用越明显，其中浓度 10 mmol/L 的 Ca^{2+}最有效 浓度继续增加，Ca^{2+}的修复作用减弱。

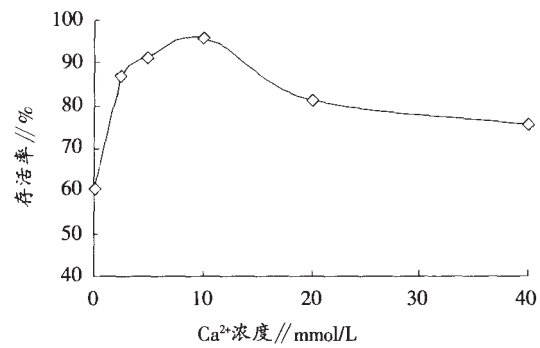

图 3　Ca^{2+}对大豆胚轴存活率的影响

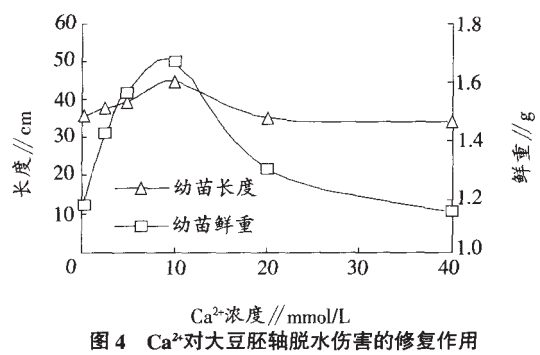

图 4　Ca^{2+}对大豆胚轴脱水伤害的修复作用

2.4　Ca^{2+}对不同脱水伤害程度的大豆胚轴的修复　预吸胀 32 h 的大豆胚轴在活化硅胶中脱水 0~14 h 后，造成不同程度的脱水伤害。用修复效果最佳的浓度 10 mmol/L Ca^{2+}进行培养，以去离子水培养作对照，5 d 后胚轴存活率如图 5 所示。未经脱水的胚轴，其对照的存活率为 88.89%，Ca^{2+}修复后存活率为 91.15%，其他生长指标也都有明显增加，表明 Ca^{2+}对未脱水的胚轴的生长有明显的促进作用。其中对脱水 6 h 的胚轴修复效果最为明显。

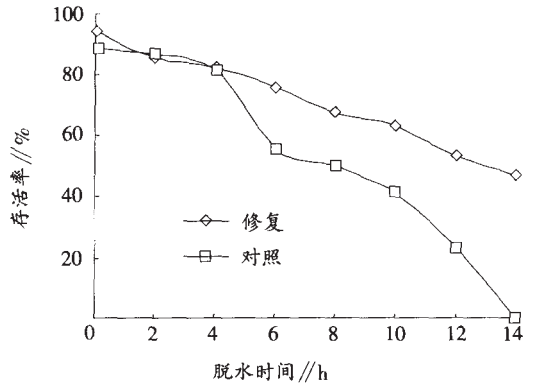

图 5　Ca^{2+}对脱水伤害的大豆胚轴存活率的影响

2.5　螯合剂 EDTA 对 Ca^{2+}修复作用的影响　将同样处理的材料分别用浓度 0、2.5、5、10、20 和 40 mmol/L 的 EDTA 溶液培养，发现除对照（存活率为 65.56 %）外，EDTA 溶液培养的幼苗只存活 3 d，5 d 后全部死亡，其中用浓度 40 mmol/L EDTA 培养的胚轴无重新萌发的现象。用浓度 0~40 mmol/L 的 EDTA 分别和 5、10 mmol/L 的 Ca^{2+}混合后对脱水伤害的大豆胚轴进行培养，发现无 EDTA 的 2 种 Ca^{2+}对脱水伤害有很强的修复作用，两者使大豆胚轴存活率分别提高到 90.33 %和 94.67 %；随着 EDTA 浓度的增加，Ca^{2+}的修复作用逐渐被抑制。当 EDTA 的浓度达到 40 mmol/L 时，Ca^{2+}修复作用被完全抑制，胚轴全部死亡。图 6 显示的是其培养 3 d 时幼苗存活率的数据。

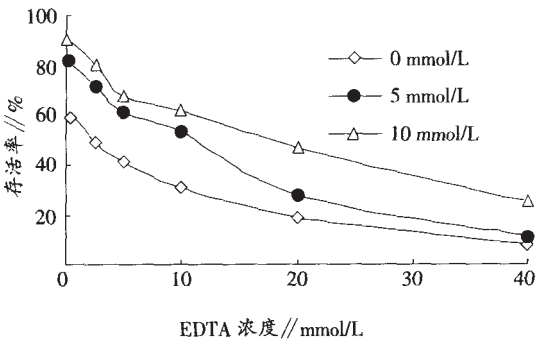

图 6　EDTA 和 Ca^{2+}对脱水伤害的大豆胚轴存活率的影响

2.6　螯合剂 EGTA 对 Ca^{2+}修复作用的影响　用浓度 0~40 mmol/L 的 EGTA 分别与 5、10 mmol/L 的 Ca^{2+}混合后培养处理的胚轴，3 d 后测得幼苗存活率如图 7 所示。5 d 时高浓度 EGTA 培养的幼苗已全部死亡，仅 2.5 mmol/L EGTA 培养的

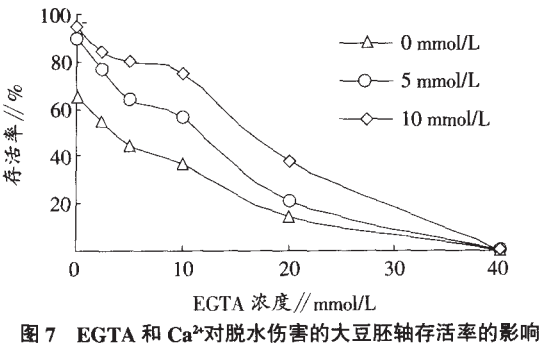

图 7　EGTA 和 Ca^{2+}对脱水伤害的大豆胚轴存活率的影响

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

幼苗有少量存活,生长状况也极差。

3 小结与讨论

⑴ 正常的种子在吸胀萌发过程中逐渐丧失脱水耐性,预吸胀时间越长、脱水时间越久,它的脱水耐性丧失越严重,脱水伤害程度也越严重。脱水后存活率为 50 %的胚轴用作修复实验材料,效果优为明显。

⑵ 未经脱水伤害的大豆种子在低浓度的 Ca^{2+}培养可促进其萌发,而高浓度 Ca^{2+}对其萌发起抑制作用,表明 Ca^{2+}作用是多方面的、综合的,它能激发种子的活力。当 Ca^{2+}浓度高于 5 mmol/L 时,随着浓度的增大,Ca^{2+}表现出抑制种子的萌发,而且 Ca^{2+}浓度越大抑制作用越明显,这可能与单盐毒害有关。此研究结果可用于指导农业生产,如播种前的种子处理。

⑶ 用浓度 0、2.5、5、10、20 和 40 mmol/L 的 Ca^{2+}培养处理的胚轴,其中 10 mmol/L Ca^{2+}最有效,它使胚轴存活率比对照提高了约 50%。这个浓度是促进种子萌发最佳 Ca^{2+}浓度的 10 倍,可见胚轴脱水伤害修复需要更高浓度的 Ca^{2+}。但过高浓度的 Ca^{2+}对胚轴脱水伤害不再有修复效果。

⑷ 浓度 10 mmol/L 的 Ca^{2+}对大豆胚轴脱水伤害修复效果最好。未经脱水的胚轴用 10 mmol/L 的 Ca^{2+}培养后,其生活力比对照高得多,表明 Ca^{2+}对种子和胚轴的萌发都有明显的促进作用。同样,有不同程度脱水伤害的胚轴经 10 mmol/L Ca^{2+}培养后,生活力也都比对照高得多,可见 Ca^{2+}对不同程度脱水伤害的胚轴均有修复作用。值得注意的是,这个浓度的 Ca^{2+}对预吸胀 32 h、脱水 6 h 大豆胚轴修复效果略好于其他情况。

⑸ EDTA 是+2 价阳离子的螯合剂,能够广泛螯合培养环境中的+2 价阳离子。从存活 3 d 的幼苗存活率来看,随着 EDTA 浓度的增加,幼苗的存活率均不断下降。用 40 mmol/L EDTA 培养的胚轴不见有重新萌发的现象。说明 EDTA 本身对胚轴的脱水伤害没有修复作用,反而降低了大豆胚轴的脱水耐性。

⑹ 随着 EDTA 浓度的增加,5、10 mmol/L 的 Ca^{2+}的修复作用逐渐被抑制。当 EDTA 浓度达 40 mmol/L 时,2 种浓度 Ca^{2+}的修复作用被完全抑制。因为 EDTA 与溶液中的 Ca^{2+}形成螯合物,使 Ca^{2+}不再以离子的形式存在,从而失去修复作用。此外,EDTA 也螯合胚轴细胞内其他+2 价阳离子,使一些依赖于+2 价阳离子的酶失活。这是 EDTA 抑制 Ca^{2+}修复作用的主要原因之一。

⑺ EGTA 是 Ca^{2+}的专一抑制剂,其本身对胚轴的脱水伤害没有促进作用,反而起抑制作用。随着 EGTA 浓度的增加,其抑制作用越明显,说明 EGTA 同样降低了大豆胚轴的脱水耐性,只是比 EDTA 的抑制效果稍弱。这是因为 EGTA 专一螯合 Ca^{2+},而不影响其他+2 价阳离子的生理作用。EDTA 和 EGTA 能降低 Ca^{2+}对脱水伤害的修复作用,是因为它们能螯合 Ca^{2+},拮抗 Ca^{2+}对脱水伤害的修复,这从另一角度进一步说明 Ca^{2+}对脱水伤害的修复作用。

Ca^{2+}脱水伤害的修复是脱水耐性研究的新领域,其修复机理尚待进一步研究。

参考文献

1 Roberts E H. Predicting the storage life of seeds [J]. Seed Sci & Tech, 1973,(1):499-514.
2 宋松泉,傅家瑞. 种子脱水耐性与保持性系统的关系 [J]. 种子,1998,99(6):45-49.
3 宋松泉,傅家瑞.钙对种子萌发的调节作用[J].种子,1991,(5):34-37.
4 刘箭,陆旺金,傅家瑞.黄皮种子发育、萌发和脱水胁迫时蛋白的合成[J].中山大学学报,1998,37(3):128-130.
5 洪法水,董振吉.干旱胁迫下不同 Ca^{2+}浓度对萌发小麦种子某些酶活性的影响[J].安徽农业科学,1994,22(3):229-231.
6 向旭,文方德,傅家瑞. 氢化钾预处理对黄皮 (Clausena lansium (lour.) skeels) 种子脱水敏感性的影响[J].植物生理学报,1999,25(4):381-387.

(上接第 951 页)

不仅消耗掉大田中土壤肥力,而且还加速了土壤板结过程,影响分蘖质量。③在 SRI 垄作栽培条件下,前期有机肥释放养分缓慢,分蘖也较慢,在分蘖中盛期,急需大量营养,仅靠土壤中有机肥分解释放的营养是不够的,且由于稀植、群体基数小,这时稻株还没有封行,厢面无水,土壤裸露在外,经风吹日晒也造成土壤中有机肥养分挥发,因此追肥种类、使用时间、使用方法与使用量需加以研究。④SRI 技术虽然可以节约用水 40 %~50 %[5],但是在我国想要做到随时调节用水,实现勤灌少灌,以挖掘 SRI 高产潜力,还需要有完善的排灌设施[6]。⑤采用软盘旱育秧,要严格控制苗床湿度,以免高温高湿引起幼苗徒长和病害发生,影响秧苗素质。

3.3 对策 ①选腐殖质含量高的沙壤土、老菜园地最好,且前茬种上绿肥翻压,如此改良几年,优化土壤结构,形成良性循环,这一点很重要。②摆苗移栽后 5 d,灌浅水撒除草剂,同时要做好清沟沥水工作,这不仅有利于锄草,而且还有利于提高土壤的通透性,增强根系活力,使根深蘖多。本试验沟周围稻株分蘖较旺,有一穴最高苗多达 68 个,有效穗达 37 个。③将秸秆铡碎还田不失为一举多得的措施。这样即可以降低 SRI 稀植下的大面积的颗间蒸发,又能很好地抑制杂草滋生,阻止土壤中有机养分的无效释放,而且覆盖的稻草经一个生产季节后,自然腐烂转化为土壤有机质,提高土壤肥力[6]。④基肥多施腐熟的有机肥,少施化肥,追肥可分 4~5 次进行,以叶面喷施为主,在分蘖前期可适当多施尿素,以满足分蘖盛期的需求[6,7]。⑤选用分蘖力强、穗大粒多、千粒重高的品种,采用营养钵旱育秧,每穴播种 1 粒种子苗,并针对不同水稻品种进行密度试验,以探寻最佳移苗摆栽结构。

参考文献

1 袁隆平.水稻强化栽培体系[J].杂交水稻,2001,16(4):1-3.
2 王守海,罗彦长,王德正,等.BT 型粳稻不育系双九 A 的选育及其利用[J].杂交水稻,2003,18(3):6-7.
3 吕孝林,梁华金,李吉树,等.中籼协优 084 高产栽培途径的研究[J].安徽农业科学,2002,30(4):557-558,567.
4 章秀福,王丹英,邵国胜.垄畦栽培水稻的产量、品质效应及其生理生态基础[J].中国水稻科学,2003,17(4):343-348.
5 马均,陶诗顺,田彦华,等.水稻强化栽培试验初报[J].杂交水稻,2002,17(5):42-44.
6 吴文革,李成荃,陈周前,等.SRI 技术本土化研究[J].中国稻米,2003,(4):7-9.
7 田彦华,牟锦毅,马均,等.杂交水稻中熟组合强化栽培体系 SRI 研究初报[J].杂交水稻,2002,17(6):34-35.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net