

板栗种子发育期间 ABA 等生理指标 与脱水耐性的相关性研究

宗梅^{1,2}, 蔡永萍¹, 范志强²

(1. 安徽农业大学 生命科学学院, 合肥 230036; 2. 安庆师范学院 生命科学学院, 安庆 246011)

摘要: 对板栗种子发育期间胚轴和子叶中部分生理指标的变化以及它们与板栗种子脱水耐性的相关性进行研究。结果表明:随着板栗种子不断发育,在花后 80 d 胚轴和子叶中 ABA、淀粉、可溶性蛋白质质量分数同步达到最大值,可溶性糖质量分数达到最低,此时板栗种子的脱水耐性最强,可确定为板栗的最佳采收期。另外,通过相关分析可知,板栗种子在发育期间脱水耐性的获得主要与胚轴中物质的变化有关,且与淀粉质量分数呈极显著正相关,与 ABA、可溶性蛋白质质量分数呈高度正相关,与可溶性糖质量分数呈中度负相关。由此得出,根据淀粉质量分数的变化可以初步推测出板栗种子最大脱水耐性时期。

关键词: 板栗; 脱水耐性; 顽拗性种子; ABA; 淀粉

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)06-0818-05

Study on the correlation between physiological indexes as ABA, etc and desiccation tolerance in developing chestnut seeds

ZONG Mei^{1,2}, CAI Yong-Ping¹, FAN Zhi-Qiang²

(1. School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. College of Life Sciences, Anqing Teachers College, Anqing 246011, China)

Abstract: The partial physiological indexes of embryonic axes and cotyledons in the developing chestnut seeds, and the correlation between them and the desiccation tolerance were studied. Experimental results showed that with the development of chestnut seeds, the contents of ABA, starch and soluble proteins of embryonic axes and cotyledons on the 80 days after anthesis reached synchronously the maximum, the content of soluble sugars of embryonic axes and cotyledons on the 80 days after anthesis was the minimum. At the moment the desiccation tolerance of chestnut seeds on the 80 days after anthesis was the strongest, so it should be the optimal harvest period for chestnut. In addition, by correlation analysis, the acquisition of desiccation tolerance in the developing chestnut seed was related to the changes of matter in embryonic axes. It was significantly correlative with starch and the contents of ABA and soluble proteins, and was negatively correlative with the contents of soluble sugars. Therefore, the period of maximum desiccation tolerance in chestnut seeds could be inferred by the change of starch.

Key words: castanea mollissima; desiccation tolerance; recalcitrant seeds; ABA; starch

板栗 (*Castanea mollissima*) 属山毛榉科 (Fagaceae) 栗属坚果类植物, 我国传统的特产干果之

一, 栽培历史悠久, 目前种植面积 66.7 hm² 以上, 产量居世界首位。板栗是一种典型的温带顽拗性种

收稿日期: 2010-12-23 修回日期: 2011-06-07

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金(2006KJ166B); 安庆师范学院引进人才项目(044-K0500000034)[Supported by the Natural Science Foundation of Anhui Provincial Education Department(2006KJ166B); Introduction of Talents Program in Anqing Normal College(044-K0500000034)]

作者简介: 宗梅(1975-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事植物生理生态研究。(E-mail)ameizong@163.com.

子,目前对顽拗性种子的研究多集中在热带植物方面,如黄皮(Bryant 等,2001)、荔枝(夏清华等,1993)等,对它们脱水耐性的获得及机理有较深入的研究,且对其发育过程中脱水耐性的获得与 ABA 含量关系也有一定的研究。ABA 对完成种子的发育程序,以及形成脱水耐性具有重要的调节功能,ABA 不仅促进种子贮藏蛋白积累,防止提前萌发,而且可诱导小麦、大麦和玉米等种子的离体胚中与脱水有关的 mRNA 和蛋白质的合成(Bartels 等,1988);外源 ABA 或水分胁迫可诱导热带生境下正常性蓖麻和澳大利亚栗籽豆成熟种子合成脱水素相关多肽(Han 等,1997)。顽拗性种子海榄雌、可可、荔枝和龙眼的成熟胚中 ABA 含量很低,对 ABA 不敏感(宋松泉等,1995),这被认为是顽拗性种子不耐脱水和贮藏的重要原因之一。

目前对于温带顽拗性种子板栗的顽拗性研究鲜见报道,仅陶月良等(2004)对其做了一定的研究,但也局限于板栗种子成熟前后,至于板栗种子发育过程中内源 ABA 与脱水耐性关系的研究缺乏报道。本文主要研究板栗种子发育进程中 ABA、淀粉、可溶性蛋白等生理指标的变化,以及它们与板栗种子脱水耐性的关系,旨在找出板栗种子脱水耐性获得的机理,为改善板栗种子的脱水耐性,提高板栗种子的贮藏品质,最大限度地延长保鲜期,以及长期保存其种质资源提供理论指导,而且扩大了顽拗性种子物种的研究范围,更加有利于充分系统地了解顽拗性种子的特性。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与处理方法

供试材料为安徽油栗,采自肥东县解集乡大包村板栗园,选择有代表性的树龄在 7~8 年生的板栗。以雌花柱头出现且反卷前为花后 0 d(周志翔,2000),自花后 60 d 开始采样,以后每隔 10 d 取 1 次,直至板栗成熟脱落,因板栗在花后 90 d 成熟,对于花后 100 d 的板栗,取自成熟板栗带苞室温下贮藏的板栗,共取 5 次样。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 板栗种子发芽率、活力指数的测定 对剥除果皮和种皮的板栗种子消毒,置于 WPM(woody plant medium,木本培养基)培养基(Lloyd 等,1980)中,25 ℃培养箱培养 2 周,统计发芽率,测定

胚根长度(mm)。活力指数=发芽率×胚根平均长度(陶月良等,2004)。

1.2.2 脱落酸(ABA)含量的测定 采用酶联免疫分析方法(ELISA)(张志良等,2003),药盒由南京农业大学提供,按药盒说明提取测定样品中 ABA 含量。

1.2.3 淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质量分数的测定 淀粉测定采用酸水解法(张志良等,2003)。可溶性糖质量分数测定采用蒽酮比色法测定(张志良等,2003)。可溶性蛋白质量分数测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定(邹琦,2000)。

以上均做三次重复。所有数据利用 EXCEL 和 SPSS 进行数据处理。

表 1 自然脱水处理下板栗种子发育过程中发芽率、活力指数的变化

Table 1 Changes of germination percentage and vigour index of chestnut seeds in different days after anthesis under the natural dehydration

各项指标 Each target	花后不同天数的板栗种子 Chestnut seed of different days after anthesis (d)				
	60	70	80	90	100
发芽率 Germination percentage					
0 d	0	16.8	87.5	100	100
3 d	12.4	27.3	100	96.4	92
6 d	0	6.5	75	64.5	58
9 d	0	0	37.5	13.1	7.64
活力指数 Vigour index					
0 d	0	6.24	25.36	28.36	30.4
3 d	3.4	9.08	31.2	28.8	27.04
6 d	0	3.12	20.56	15.88	12.2
9 d	0	0	7.2	3.0	1.6
脱水耐性级数 Desiccation tolerance series	1	2	5	4	3

2 结果与分析

2.1 板栗种子生活力和脱水敏感性的变化

种子的发芽率和活力指数是种子生活力的重要指标,不同发育阶段的板栗种子的发芽率、活力指数是不同的,当对其进行自然脱水处理,各自的表现又有所不同(表 1)。花后 60~80 d,经轻度脱水,发芽率和活力指数均有所提高,随着脱水程度的加深,均迅速下降;花后 90~100 d 在自然脱水零天时,发芽率达到最大值为 100%,随着自然脱水的进行,发芽率和活力指数呈现逐步下降的趋势,且花后 90 d>花后 100 d;从脱水第 3 天开始至第 9 天,花后 80 d

的发芽率和活力指数均高于花后 90 d,表现出最佳的脱水耐性。因此,本文设定花后 60~100 d 板栗种子的脱水耐性级数分别为 1、2、5、4、3。

2.2 板栗种子 ABA 和可溶性蛋白质质量分数的变化

随着板栗种子的发育,板栗种子内胚轴和子叶中 ABA 含量均表现出一致的变化趋势,呈现出单峰曲线(图 1),均在花后 80 d 达到最大值,分别为 25.0、28.6 nmol/g FW,且子叶中的 ABA 含量一直略高于胚轴中的 ABA 含量。在板栗成熟脱落后,ABA 的含量达到很低的水平,是由于它所处的生理状态发生改变所致。

可溶性蛋白在板栗种子发育过程中,胚轴和子叶中的可溶性蛋白质量分数呈现出单峰曲线(图 1),胚轴与子叶中的可溶性蛋白从花后 60 d 至花后 80 d 基本一致,之后胚轴中的可溶性蛋白质量分数明显高于子叶中的可溶性蛋白质量分数,胚轴在花后 90 d 达到峰值为 32.52 mg · g⁻¹FW,子叶在花后 80 d 达到最大值为 22.42 mg · g⁻¹FW。由此可见,在板栗种子发育后期胚轴和子叶中两者的蛋白质存在明显的差异性表达,胚轴中可溶性蛋白质量分数反而有所上升,说明有新蛋白的合成,子叶中可溶性蛋白质量分数大量减少,表明其被降解消耗。

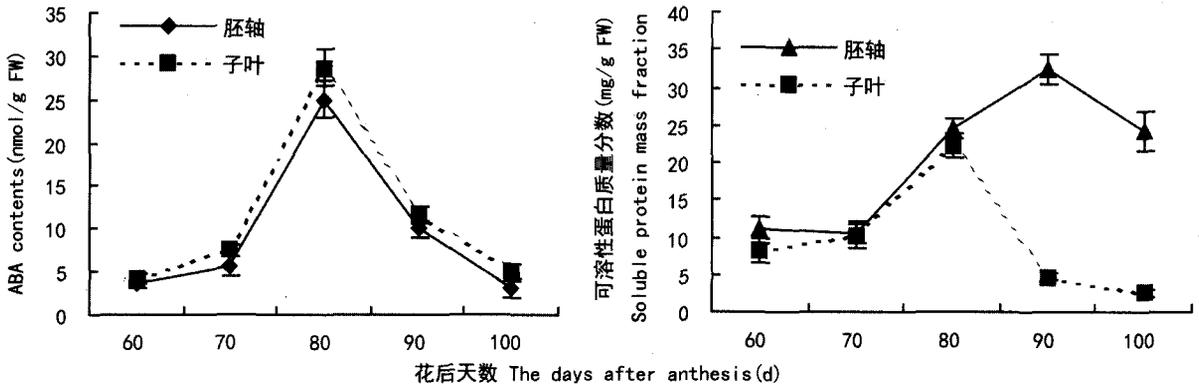


图 1 板栗种子发育过程中 ABA 和可溶性蛋白质质量分数的变化

Fig. 1 Content changes of ABA contents and soluble proteins in the developing chestnut seeds

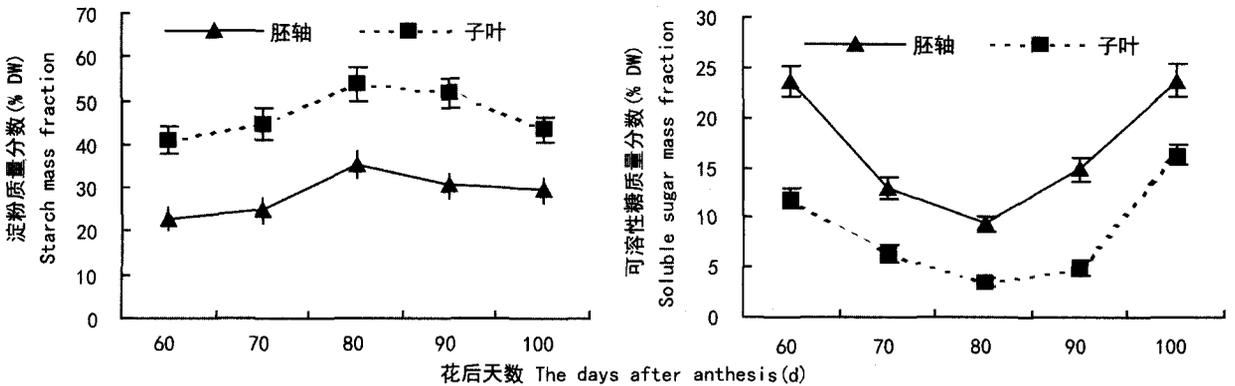


图 2 板栗种子发育过程中淀粉和可溶性糖质量分数的变化

Fig. 2 Changes of starch and the soluble sugars contents in the developing chestnut seeds

2.3 板栗种子淀粉和可溶性糖质量分数的变化

由图 2 可知,板栗种子发育过程中胚轴和子叶中淀粉质量分数呈现出基本一致的变化趋势,即先上升再缓慢下降,两者均在花后 80 d 达到最大值,分别为 35.41% DW、53.72% DW,且子叶中的质量分数一直显著高于胚轴中的淀粉质量分数。由此可见,由于板栗是一种淀粉型种子(苏梦云等,1994),

因此子叶中的淀粉质量分数远高于胚轴;此外,在板栗种子成熟脱落后,胚轴和子叶中的淀粉均有所下降,说明淀粉被降解消耗。

可溶性糖在板栗种子发育过程中呈现出与淀粉相反的变化趋势(图 2),即胚轴和子叶中可溶性糖质量分数先下降再上升,两者均在花后 80 d 达到最小值分别为 9.32% DW、3.53% DW,且胚轴中的可

溶性糖质量分数一直高于子叶中的可溶性糖质量分数。在板栗种子发育后期,可溶性糖质量分数呈现出不断增加的趋势,是由淀粉降解所致。

2.4 各指标与脱水耐性级数的相关性分析

从表 2 可知,板栗种子发育过程中不同的生理指标与脱水耐性级数的相关系数不同,就不同生理指标而言,淀粉、ABA、可溶性蛋白均与脱水耐性级

数呈正相关,仅可溶性糖与脱水耐性呈负相关,淀粉的相关系数最高达到极显著水平,ABA 达到高度相关,可溶性蛋白胚轴中达到高度相关,子叶中仅为低度相关,可溶性糖达到中度相关;而就板栗种子不同部位而言,胚轴中各指标与脱水耐性级数的相关系数总体高于子叶中各相关系数。由此可知,板栗种子在发育期间脱水耐性的获得主要与胚轴中物质的

表 2 生理指标与脱水耐性级数的相关分析

Table 2 The correlation analysis of physiological indexes and desiccation tolerance series

各指标 Each target	胚轴 Embryonic axes				子叶 Cotyledons			
	脱落酸 ABA	可溶性蛋白 Soluble proteins	淀粉 Starch	可溶性糖 Soluble sugars	脱落酸 ABA	可溶性蛋白 Soluble proteins	淀粉 Starch	可溶性糖 Soluble sugars
脱水耐性级数 Desiccation tolerance series	0.8200	0.8473	0.9828 **	-0.6495	0.8345	0.4447	0.9751 **	-0.5405

** 在 0.01 水平上显著相关; * 在 0.05 水平上显著相关。

** highly significant correlation at 0.01 level; * significant correlation at 0.05 level.

变化有关,特别是淀粉的变化对其影响最大,ABA、可溶性蛋白的变化对其也有较大的影响,可溶性糖对其有一定的影响。

3 结论与讨论

通过对花后不同天数板栗种子进行发芽率和活力指数试验表明,生理成熟期的板栗种子(花后 90 d)和花后 100 d 的板栗种子均未表现出最强的脱水耐性,而花后 80 d 的板栗种子(此时板栗刺苞为黄绿色且薄、硬,苞肉缝合线呈白色)却表现出对脱水的敏感性最弱。陶月良等(2004)的研究结果却指出花后 90 d 的板栗种子最耐脱水,与本试验有差异。唐时俊等(2004)指出最适采收成熟度特征为栗苞色泽由绿转黄,刺束先端枯焦,苞肉缝合线露出白色纵痕,但未开裂,与本研究结果基本一致。因此本试验得出,板栗种子最大脱水耐性时期应为花后 80 d。

关于板栗种子中 ABA 含量的变化,目前主要报道整个种子的研究,并未将胚轴和子叶部分分开,且未研究其与脱水耐性获得的关系,本试验结果表明,随着板栗种子发育进程的推进,板栗种子胚轴和子叶中 ABA 呈现出单峰曲线,两者峰值均在花后 80 d 出现。与郑郁善(1998)的研究相似,板栗种子发育过程中内源 ABA 含量逐渐上升,达到高峰时间是板栗开花后 105 d,随后 ABA 含量逐渐下降。但与周志翔等(2000)的研究稍不同,板栗自花后 5~105 dABA 总体呈现出不断下降的变化趋势,在

发育末期即花后 105 dABA 稍有上升。同时与其它顽拗性种子相比,本试验结果也与其相似,如彭业芳等(1995)曾报道,在荔枝和龙眼种子发育过程中,内源 ABA 水平呈单峰趋势,果实成熟时采收的种子,ABA 含量比高峰时分别下降近 6 倍。

在板栗种子发育前期,因 ABA 有助于物质的积累,随着 ABA 不断增加,可溶性蛋白大量增加,可溶性糖大量减少,转变为板栗种子的主要贮藏物质淀粉;在板栗种子发育后期 ABA 迅速下降,启动了萌发生理的信号,板栗种子内主要贮藏物质淀粉大量降解,可溶性糖质量分数随之增加,胚轴和子叶中可溶性蛋白质量分数存在明显的差异性表达,是由于板栗种子此时已由发育事件转变为萌发事件,子叶和胚轴所处萌发状态中的功能不同,因此胚轴中有新蛋白的合成,可溶性蛋白质量分数有所上升;而子叶中的可溶性蛋白降解转运至胚轴中用于新蛋白的合成,因此可溶性蛋白质量分数迅速下降。

对于顽拗性种子大部分研究表明,在成熟脱落时其脱水敏感性上升与 ABA 含量迅速下降有关,但并未做一些脱水敏感性的相关性研究。本试验通过相关分析可知,板栗种子在发育期间脱水耐性的获得主要与胚轴中物质的变化有关,且与淀粉质量分数呈极显著正相关,与 ABA、可溶性蛋白质量分数呈高度正相关,与可溶性糖质量分数呈中度负相关。由此得出,根据淀粉质量分数的变化可以初步推测出板栗种子最大脱水耐性时期,从而推测出适宜采收期,这将有利于板栗种子的采后保鲜。

参考文献:

- 张志良, 瞿伟菁. 2003. 植物生理学实验指导[M]. 高等教育出版社:127-197
- 邹琦. 2000. 植物生理学实验指导[M]. 中国农业出版社:127-130
- Bryant G, Koster KL, Wolfe J. 2001. Membrane behaviour in seeds and other systems at low water content; the various effects of solutes[J]. *Seed Sci Res*, **11**:17-25
- Bartels D, Singh M, Salamini F. 1988. Onset of desiccation tolerance during development of the barley embryos[J]. *Planta*, **175**:485
- Han B, Berjak P, Parmmenter NW. 1997. The recalcitrant plant species, *Castanospermum australe* and *Trichilia dragaena*, differ in their ability to produce dehydrin-related polypeptides during seed maturation and in response to ABA or water-deficit-related stress[J]. *J Exp Bot*, **48**:1 717-1 726
- Lloyd G, McCown B. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture[J]. *Proc Int Plant Propag Soc*, **30**:421-427
- Peng YF(彭业芳), Fu JR(傅家瑞). 1995. ABA contents and sensitivity to exogenous ABA of Lychee (*Litchi chinensis* Sonn) and Longan (*Euphoria longan* Steud) seeds during development(荔枝和龙眼种子发育过程中 ABA 含量及对外源 ABA 敏感性的变化)[J]. *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理学报), **21**(2):159-165
- Song SQ(宋松泉), Fu JR(傅家瑞), Chen RZ(陈润政). 1995. The developmental characteristics of recalcitrant seeds in relation to desiccation tolerance(顽拗性种子的发育特性与脱

- 水耐性)[J]. *Seed*(种子), **75**(2):1-7
- Su MY(苏梦云), Zhou GZ(周国璋), Wu ZH(吴祖洪). 1994. The effect of TDS regulator on the nutrition condition in chinese chestnut(TDS 调节剂对板栗营养状况的影响)[J]. *Fore Res*(林业科学研究), **7**(4):443-446.
- Tao YL(陶月良), Zhu C(朱诚). 2004. Relationship among desiccation-tolerance, proteins and soluble sugars before and after maturation of *Castanea mollissima* seeds(板栗种子成熟前后脱水敏感性与蛋白质、可溶性糖的关系)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **40**(2):45-50
- Tang SJ(唐时俊), Li CZ(李昌珠), Wang XM(王晓明), et al. 2004. Technology of storage for chestnut-chestnut bud preservation(板栗贮藏新技术—栗苞保鲜)[J]. *South China Fruits*(中国南方果树), **33**(3):56-58
- Xia QH(夏清华), Chen RZ(陈润政), Fu JR(傅家瑞). 1993. Study on physiology of Lychee (*Litchi chinensis*) seed in different developmental stages(不同发育时期荔枝种子的生理研究)[J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatsen*(中山大学学报), **32**(1):80-84
- Zheng YS(郑郁善). 1998. Studies on the ABA sensitivity during the development of *Castanea mollissima* and *C. Henryi* seeds(板栗和锥栗种子发育过程中 ABA 生理效应的研究)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **34**(4):1-7
- Zhou ZX(周志翔), Zhang WC(章文才), Xia RX(夏仁学), et al. 2000. Study on the relationship between fruit development and endogenous hormone contents in ovary of chinese chestnut(栗果实发育与子房内源激素含量的关系研究)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **33**(3):36-42

(上接第 769 页 Continue from page 769)

是作为较接近的群系的一个松散归类。

植被分类的依据和方法一直是植被生态学研究中存在争议的问题之一,而常绿阔叶林又是一种十分复杂的植被类型。常绿阔叶林是广西最重要的森林类型,本文依据高级单位以生态外貌、中级单位以区系组成的原则,对广西的常绿阔叶林进行系统的归类。但由于学术观点不同及调查程度差异,得出的结果难免片面。因此,希望得到读者的批评指正。

参考文献:

- 吴征镒. 1980. 中国植被[M]. 北京:科学出版社:143-356
- 广东省植物研究所. 1976. 广东植被[M]. 北京:科学出版社:189-217
- 四川植被协作组. 1980. 四川植被[M]. 成都:四川人民出版社:90-133
- 云南植被编写组. 1987. 云南植被[M]. 北京:科学出版社:275-337
- 宋永昌. 2001. 植被生态学[M]. 上海:华东师范大学出版社:297-306

- 李治基,等. 2001. 广西森林[M]. 北京:中国林业出版社:154-169
- Hu SS(胡舜士). 1979. The phytocoenological features of evergreen broad-leaved forest in Guangxi(广西常绿阔叶林的群落学特点)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **21**(4):362-370
- Song YC(宋永昌). 2004. Tentative classification scheme of evergreen broad-leaved forests of China(中国常绿阔叶林分类试行方案)[J]. *Acta Phy Sin*(植物生态学报), **28**(4):435-448
- Song YC(宋永昌), Chen XY(陈小勇), Wang XH(王希华). 2005. Studies on evergreen broad-leaved forests of China; a retrospect and prospect(中国常绿阔叶林研究的回顾与展望)[J]. *J East China Nor Univ; Nat Sci Edi*(华东师范大学学报·自然科学版), **1**(1):1-8
- Su ZM(苏宗明). 1998. The classified system of natural vegetation in Guangxi(广西天然植被类型分类系统)[J]. *Guihaia*(广西植物), **18**(3):237-246
- Wang XP(王献溥), Jiang GM(蒋高明). 2001. Classification study on the evergreen oak forest in Guangxi(广西常绿栎林的分类)[J]. *J Plant Res Environ*(植物资源与环境学报), **10**(3):39-46
- Wang XP(王献溥), Jiang GM(蒋高明). 2002. The study of *Castanopsis karakamii* forest classification in Guangxi(广西青钩栲林分类的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **22**(2):97-104