
种子含水量与程序降温处理后种子耐冻性的关系研究

周婧雯, 丁玉娇, 曾晓蓉, Ganesh K Jaganathan, 韩颖颖*, 刘宝林*
(上海理工大学生物系统热科学研究所, 上海 200093; 联系方式: yyhan2007@163.com; blliuk@163.com)

摘要: 本研究以生菜 (*Lactuca sativa*) 种子为研究对象, 将其进行不同时间的吸水处理 2h、4h、6h、8h、10h、11h (11h 以后种子完全萌发, 所以不取之后的材料), 检测其含水量差异, 再通过程序降温 (降温速率为 $-1^{\circ}\text{C min}^{-1}$) 处理, 测定不同含水量种子经程序降温后发芽率的差异, 从而探究其含水量对种子耐冻性的影响。结果表明, 总体上来说随着种子含水量增加, 种子的耐冻性逐渐降低。种子吸水表现出“三阶段”特点, 在吸水 6h 以前有个吸水阶段, 吸水 6-8 小时呈现短时停滞, 到 8h 以后至发芽前有个二次吸水过程。吸水过程中的生菜种子也表现出浮动的耐冻性, 处理 6h 和 10h 耐冻性有个较前一时间段的提高, 而 8h 和 11h 出现了下降, 这可能与吸水过程中种子出现了不同的生理特征有关。

关键字: 生菜 种子 含水量 三阶段吸水 耐冻性

Study on the Relationship between Moisture Content and Freezing Tolerance in Lettuce Seeds

Zhou Jingwen Ding Yujiao Zeng Xiaorong Ganesh K Jaganathan Han Yingying* Liu Baolin*

(Institute of Biothermal Science and Technology, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093.

Corresponding Email: yyhan2007@163.com; blliuk@163.com)

Abstract In this study, the seeds of lettuce (*Lactuca sativa*) were imbibed for different hours 2h、4h、6h、8h、11h (The seeds were germinated after 11h) and the moisture content was measured. Then the seeds with different moisture content were cooled with cooling rate of $-1^{\circ}\text{C min}^{-1}$, and characterizing the influence of the moisture content on the freezing tolerance of the seeds. According to the results, the higher MC led to decreased freezing tolerance. The up-take of water by seeds showed tri-phasic pattern: a quick uptake of water before 6h imbibition was followed by a lag phase between 6h and 8h, and a second absorbing peak happened after 8h before germinated. The freezing tolerance of seed in different phase exhibited fluctuated pattern. There are two peaks of freezing tolerance in the seeds with 6h and 10h imbibition and two sharp reductions at 8h and 11h imbibition. These might be related with the changing physiological function in the process of imbibition.

Keywords *Lactuca sativa* Seed Moisture content Tri-phase water uptake Freezing tolera

0 前言

植物种质资源通常可分为中间性种子植物、顽拗性种子植物、正常性种子植物和无性繁殖植物四大类。根据种子可以在不同的温度下的储存,可以分为正常性种子、顽拗性种子、中间性种子^[1]。

种子的贮存质量会受到所含水分多少的影响。Harrington 曾指出:当种子的含水量以某一比例增加时,其寿命就会按一定比例减少^[2]。对于正常型的种子来说,延长种子寿命可通过降低种子的贮藏温度,从而可以降低种子劣化的程度,达到保持种子活力的目的。当种子的含水量比较高时,细胞中的各种酶都会处于活跃状态,各种生理活动都会加速,而且在加速的过程中,这些酶就会分解很多细胞物质,由于这些原因,种子在贮藏之后,其完整性也会降低。在早期的研究中,埃利斯等通过降低含水量,在比较高的温度下储存,与较高含水量在低温下储藏的效果相当。^[3]当种子有一定的含水量时,可以将其降温。当种子的贮藏温度恒定时,可以通过降低种子的含水量,从而达到保持种子活力,保护种子内部组织,保证正常发芽率的目的^[4]。

生菜种子属于正常性种子,在成熟之后可以将其干燥到含水量较低,进而在低温下保存。含水生菜种子是研究低温种子保存的模式种子^[5, 6]。本文以不同含水量生菜种子为材料,研究在生菜种子吸水过程中的低温耐冻性变化,以期对顽拗型种子低温贮存过程中的水分含量影响提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设备

“罗莎绿”的生菜(Lactuca sativa)种子沟子北京凤鸣雅氏种子公司。GZX-250B 光照培养箱,中国通力信达。

1.2 试验方法

1.2.1 不同吸水时间种子含水量的测定

将种子琼脂 1%培养基。吸水时间,分别是 2h、4h、6h、8h、10h、11h,放入设置温度为 21℃、光照度为 6 级的光照培养箱中进行吸水。吸水后,放入温度设置为 105℃的烘箱中进行种子干燥 17h,测定含水量。

1.2.2 不同含水量种子程序降温后发芽率测定

放入程序降温盒中程序降温,每个温度播种三个平行,一个平行 25 粒种子;在温度为 21℃、光照度为 6 级的光照培养箱中进行培养,连续三天观察计算发芽率。

发芽率(%) = 供试种子发芽数 / 供试种子总数 × 100%^[7]

2 结果

2.1 不同吸水时间后种子的含水量变化

由图 1 可以看出,生菜种子随着吸水时间的延长,含水量的趋势大致表现为“快-慢-快”三阶段的特点。

一阶段为种子吸水的上升阶段。种子刚开始吸水时,种子处于完全干燥状态,此时种子的含水量极低,所以种子此时的吸水速率很大。

二阶段为种子吸水的平缓阶段。此时种子吸水极少,甚至有一点下降趋势,由 6h 至 8h,种子的含水量变化不显著($P > 0.05$)。这是由于种子在经历了前一阶段的吸水之后,其含水程度趋于饱和,阻碍了种子的进一步吸水。

三阶段种子又进入了吸水较快的阶段。在上一步的吸水过程中,种子内的各种成分开始活跃。某些酶活性恢复,促进细胞中某些物质的形成。细胞中某些基因表达,转录形成 RNA,继而产生某些蛋白。细胞中的某些供营养物质也开始分解以提高细胞呼吸等生命活动所需要的养料。因此在经历上一部的吸水缓慢期后,细胞的吸水在此阶段又加强。

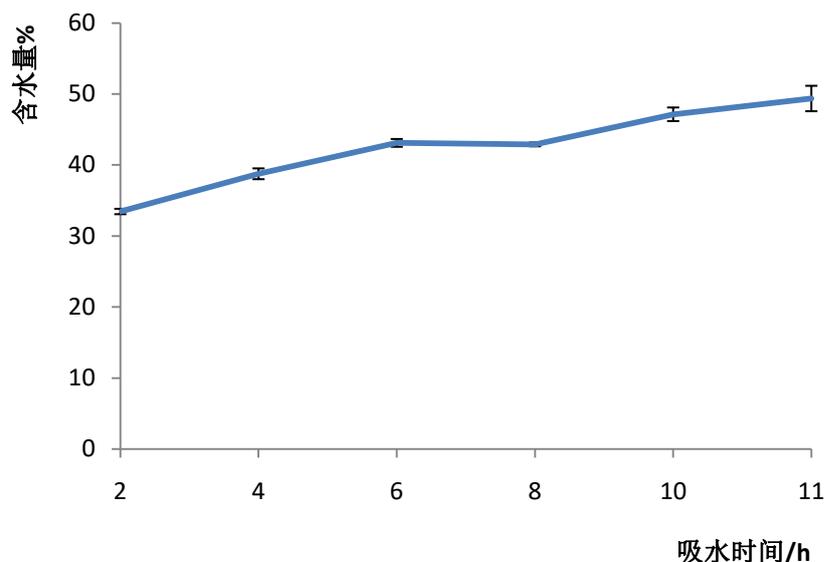


图1 不同吸水时间种子含水量变化趋势

2.2 不同含水量种子程序降温后发芽率变化

2.2.1 程序降温过程温度速率变化

在对吸水后种子进行程序降温时，用热电偶进行降温速率监测，降温速率大致是 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ （图2）。

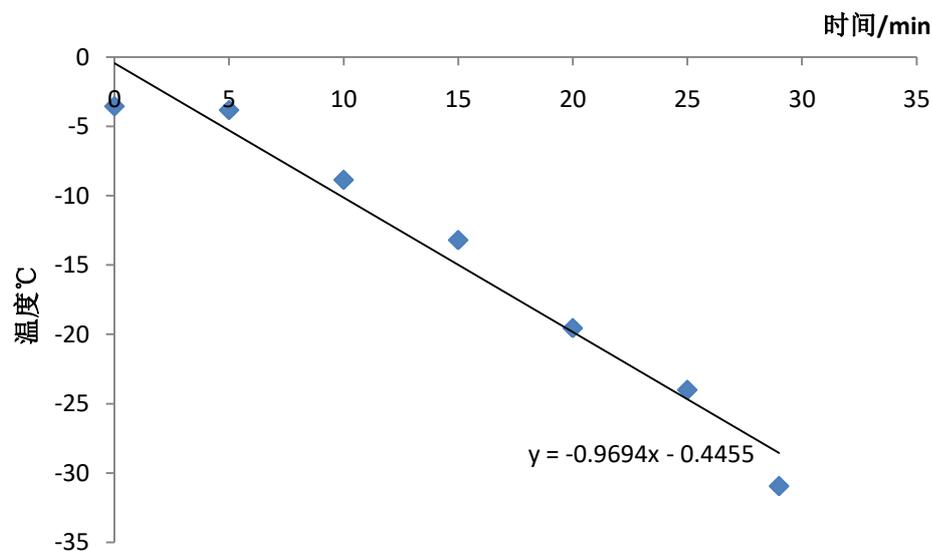


图2 程序降温速率变化

2.2.2 各温度不同吸水时间发芽率变化

用于鉴定种子生命力大小的重要指标是种子的发芽率。而种子的发芽率又受种子的温度及含水量的影响^[8]。

由图3可以看出，将种子吸水11h后进行程序降温，随着温度的降低，其发芽率呈递减趋势，应该是由于种子吸水11h后，已经具有很高的含水量，再对其进行程序降温，随着温度的不断降低，种子内的水分更加容易被冻结，对种子内的组织造成更大的伤害，所以导致发芽率的不断降低。

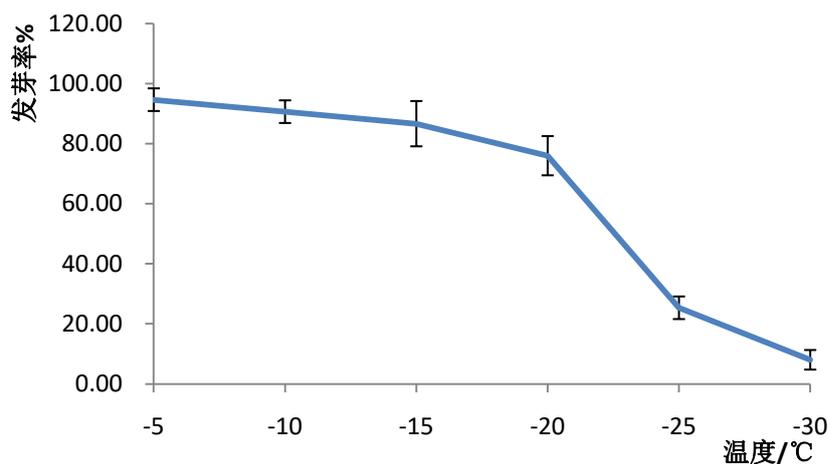


图3 种子吸水 11h 程序降温后发芽率

为了验证此温度对于其他含水量种子发芽率的影响,取吸水 6h 后的种子进行程序降温后发芽率测定实验。由图 4 可以看出,随着温度的降低,种子的发芽率大体表现为下降趋势,在 -20°C — -30°C 的下降幅度更大。于是就确定了进行不同含水量种子程序降温所取的半致死温度。

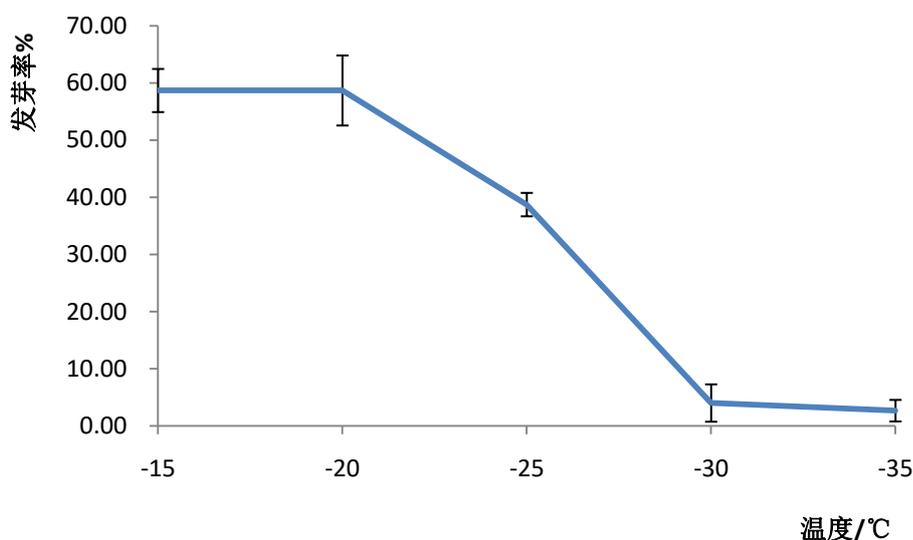


图4 种子吸水 6h 程序降温后发芽率

如图 5 及图 6,对不同吸水时间后的种子分别降温到 -20°C 和 -22°C ,随着吸水时间的增加,其发芽率的波动较为明显,但大体的趋势为先升高然后降低。

在吸水 2 小时时,对种子的发芽率影响不大,发芽率较低。当吸水至 6h 时,降温到 -20°C 和 -22°C 发芽率都处于最大,这可能是由于此时在经历第一阶段的吸水之后,种子内部的酶等各种成分变得相对比较活跃,种子的活力增强。而此时种子内的水分不至于太高,在进行程序降温后受到的低温影响也不会太大,因此生命活力受到的影响不大,表现为较高的发芽率。

而在种子吸水 8h 时,其发芽率明显处于降低趋势,由前面测得的含水量数据可以得知,在吸水 8h 时,种子的吸水有个暂缓阶段,说明此阶段种子吸水已经达到相对饱和状态,种子内吸水最多,水含量很大。因此在降温时,种子内部的水分更容易结冰,对种子的伤害更大,表现为发芽率很低。

在吸水 10h 时,在对其进行降温处理,发芽率相比 8h 有增加的趋势,这可能是由于在吸水 10 小时后,种子内部已接近发芽状态,此时种子内部的酶等各种成分变得更加活跃,种子内部的生命活动加强,各种代谢相对比较旺盛,种子的活力增强,所以出现了短暂的耐冻性提高。在吸水时间 11h 时,种子内部可能已经萌发,此时对其进行程序降温,可能会冻坏即将发芽的胚,所以表现为发芽率很低。

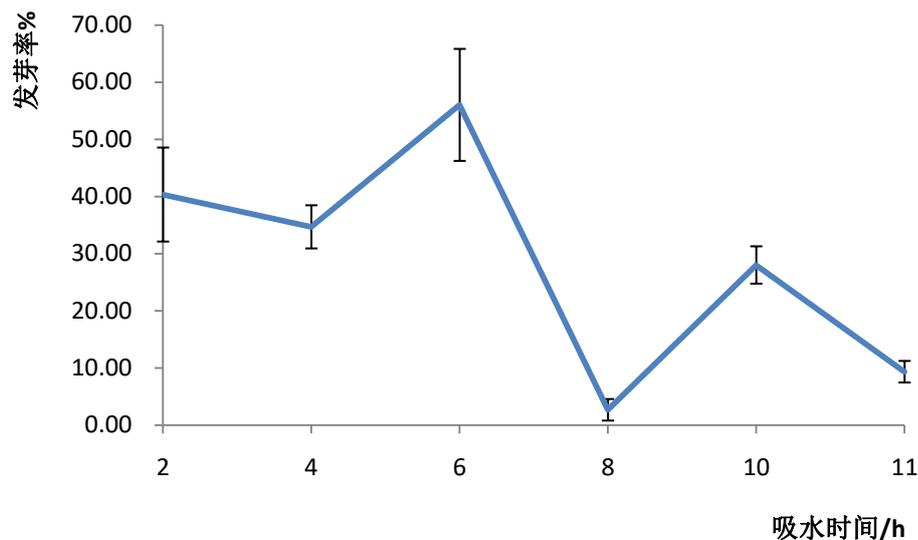


图5 不同含水量种子程序降温至-20℃发芽率

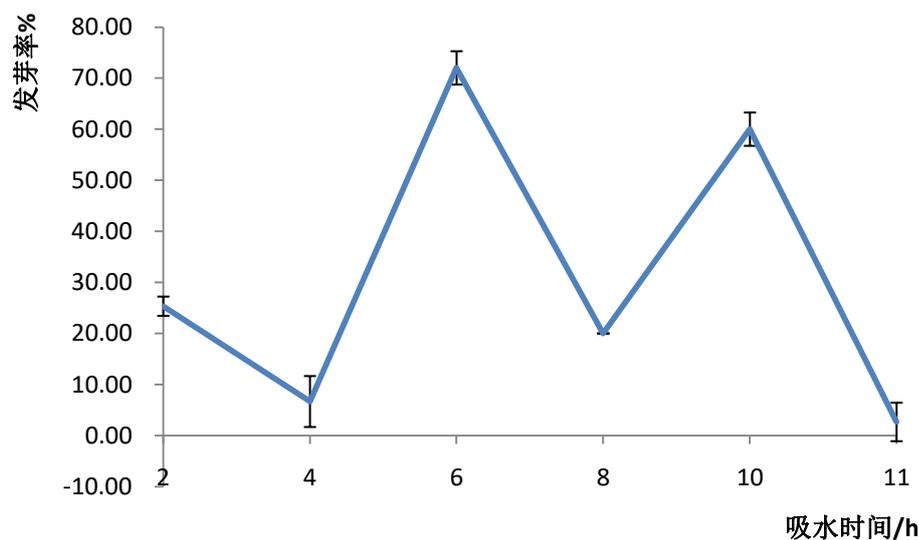


图6 不同含水量种子程序降温至-22℃发芽率

3 结论

种子在吸水过程中,随着吸水时间的增加,其吸水速率并不是持续增加。在本研究中,通过对生菜种子的吸水试验可以看出,其含水量随着时间的增加表现为“快-慢-快”的特点。通过本实验对生菜种子的研究,发现种子发芽率的半致死温度在-22℃左右,当温度降至-25℃时,无论吸水时间长或是短,发芽率都很低,说明在-25℃以下大多数种子已被冻死。因此,在进行种子低温贮藏时,贮藏温度最好低于-22℃进行贮存。

在本实验中,随着种子含水量的增加,这些基因的表达趋势都是趋于增加的,这可能因为当含水量越多的时候,种子在低温下受到的冷胁迫就会越大,从而调节产生更多的抗冷基因来合成相应的抗冷物质。

参考文献

- [1]Roberts EH Predicting the storage life of seeds.Seed Science and Technology, 1973 1 (4) : 499-514
- [2]张凤. 低温贮藏对不同含水量种子活力的影响[D]. 山东: 山东农业大学, 2014
- [3]解楠楠等. 温度与含水量对金钱种子贮藏的影响[J]. 江西农业大学学报, 2011, 33 (6) : 1100-1106
- [4]李玉荣等. 植物种子超干贮藏研究进展[J]. 种子, 2011, 30 (12) : 53-57

- [5]P. D. KEEFE and K. G. MOORE. Freeze Desiccation: a Second Mechanism for the Survival of Hydrated Lettuce (*Lactuca sativa* L.)Seed at Sub-zero Temperatures[J].Ann.Bot., 1981, 47: 635-645
- [6]徐呈祥. 提高植物抗寒性的机理研究进展[J].生态学报, 2012, 32 (24): 7966-7980
- [7] 龚晓崇, 宋从凤, 王鸣华, 等. 高效液相色谱法测定烟草和棉花中生长素含量[J]. 江苏农业学报, 2012, 28 (1): 225-227
- [8] 于竞. 对影响种子贮藏因素的分析[J].种子世界, 2016 (5): 12-13
- [9]向静. 拟南芥 DHHC 型锌指蛋白基因 At5g04270 分离鉴定与功能生化分析[D]. 湖南: 湖南大学, 2011
- [10]赵新英. 拟南芥棕榈酰基转移酶在叶片衰老过程中的功能解析[D]. 山东: 山东农业大学, 2014
- [11]孙晓艳等. 二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸的生物合成途径研究进展[J]. 生物技术通讯, 2012 (5): 755-758
- [12]曹瀛. 日本七鳃鳗 α -天冬氨酰二肽酶和棕榈酰蛋白硫酯酶 1 的基因克隆、原核表达及生物活性研究[D].辽宁: 辽宁师范大学, 2013
- [13]吴景等. 镜鲤脂肪酸延长酶 5 基因的克隆和表达分析[J].中国水产科学, 2015, 22 (1): 9-16
- [14]杨志刚等. 中华绒螯蟹脂肪酸延长酶(ELOVL)基因全长 cDNA 的克隆及其表达分析[J]. 中国水产科学, 2016, 23 (1): 53-63