

水分胁迫对蔓性千斤拔种子萌发和生理指标的响应

柯 芳, 施力军, 冯世鑫, 马小军*

(广西壮族自治区药用植物园, 南宁 530023)

摘 要: 利用不同浓度的聚乙二醇(PEG)模拟水分胁迫条件, 测定蔓性千斤拔种子发芽率、发芽指数、平均发芽速度、苗长等萌发特性及渗透调节物质、保护酶活性等生理指标。结果显示, 随着 PEG 浓度的增加, 苗长受到明显抑制, 发芽率影响不大, 降低了平均发芽速度, 在 4% 浓度范围内提高了发芽指数; 可溶性糖、脯氨酸、可溶性蛋白含量呈上升趋势, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性呈逐渐上升的趋势。这些结果表明, 在一定的 PEG 胁迫浓度范围内, 蔓性千斤拔种子萌发有较高的膜保护酶系统及渗透调节能力, 并能不同程度的提高其萌发的整齐度。

关键词: 蔓性千斤拔; 水分胁迫; 种子萌发; 渗透调节; 保护酶活性

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)06-0846-04

Response of water stress on seed germination and physiological characteristics of *Flemingia philippinensis*

KE Fang, SHI Li-Jun, FENG Shi-Xin, MA Xiao-Jun*

(Guangxi Botanic Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China)

Abstract: Under the water stress simulated by different concentrations of PEG, the seed germination rate, germination index, mean germination speed, seedling length and osmotic adjustment, protective enzyme activity of *Flemingia philippinensis* were investigated. The results showed that with the increase of PEG concentrations, seedling length was inhibited obviously but had little effect on germination rate, the mean germination speed was decreased, and the germination index increased under 4% of PEG. Soluble sugar, Pro and soluble protein content showed increasing trends, also the activities of superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD). These results illustrated that under certain PEG concentrations, the germinating *F. philippinensis* seeds had good membrane-protecting enzyme system and high osmotic adjustment capacity, which could improve the uniformity of the seed germination.

Key words: *Flemingia philippinensis*; water stress; seed germination; osmotic adjustment; protective enzyme activity

蔓性千斤拔(*Flemingia philippinensis*)是豆科药用植物, 为《中国药典》2005 版一部附录 II 所收载, 药用根部, 是常用中药材, 主治风湿骨痛、腰肌劳损、月经不调等症。是妇科千金片、金鸡冲剂和壮腰健肾丸等中成药的主要原料药(饶伟文等, 1999)。蔓性千斤拔野生资源日益减少, 人工种植迅速发展, 但由于其种子存在硬实现象, 对播种技术要求较高, 常出现播种出苗率低, 甚至不出苗或者死苗的现象。

目前对蔓性千斤拔的研究, 主要集中在化学(陈敏等, 1990)、药理(陈一等, 1993)、资源(饶伟文等, 1999; 韦裕宗, 1991)、栽培(柯芳等, 2007; 蒙爱东等, 2005; 冯世鑫等, 2007)等方面, 而对于应用聚乙二醇模拟水分胁迫下, 研究蔓性千斤拔幼苗高度、发芽率、发芽速度、渗透调节及保护酶活性变化等, 来探讨蔓性千斤拔水分胁迫下的渗透调节机制以及膜伤害机制尚未见文献报道。本实验对此进行了研究,

收稿日期: 2009-06-10 修回日期: 2009-10-20

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科攻 0718002-3-1)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi(0718002-3-1)]

作者简介: 柯芳(1978-), 女, 广西柳州人, 硕士, 主要从事药用植物生理及种子质量标准的研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: xjma@public.btu.net.cn)

探讨水分胁迫对蔓性千斤拔种子萌发的影响,以便指导生产播种。聚乙二醇 6000(PEG6000)是乙醇聚合物,由于其分子量大(6000 以上),不能透过细胞壁,可作为渗透调节物质。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为广西富川县栽培的蔓性千斤拔种子。

1.2 方法

采用聚乙二醇(PEG6000)模拟水分胁迫,设置浓度分别 2%、4%、6% 的浓度梯度,在 25℃ 温度下相对应的水势分别为-0.12、-0.33、-0.62 bar(Michel 等,1973)。蔓性千斤拔种子经机械破皮后在室温下用自来水浸泡 24 h,吸干种子表面水分后挑选均匀一致充分吸胀的种子,分别置于浸湿了不同浓度 PEG 溶液的双层滤纸上培养,设蒸馏水纸上发芽床为对照,发芽统计每个处理 4 个重复,生理指标测定设置 3 个重复,每个重复 100 粒种子,于 25℃ 光照培养箱中培养。每天滴数滴溶液,保持滤纸湿润,每 4 d 更换一次滤纸,以尽量减少水势变动。

1.3 测定指标与方法

每天观察记录种子发芽情况,随时检出霉烂种子,以子叶展开、胚根胚轴生长正常为发芽标准,计算种子发芽率、平均发芽速度、发芽指数、幼苗高度,于置床之日起的第 2、4、6、8、10、12、15 天分别取试验种子的全株测定可溶性糖、脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白含量及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性。以置床之日为 0 计,第 15 天为发芽末次计数时间及取样时间。(1)发芽率:正常发芽数占供试种子数的百分比。(2)平均发芽速度:平均发芽速度 = $\sum(D \times n) / \sum n$,其中:D 为从种子置床起算的天数,本实验以置床之日为 0。n 为相应各天的发芽粒数。(3)发芽指数: $GI = (Gt/Dt)$,其中:Gt 为在 t 天的种子发芽数,Dt 为相应的发芽天数。(4)幼苗高度的测量:于发芽第 15 天分别测量各处理幼苗高度,并计算平均值。(5)可溶性糖、脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白的测定方法:可溶性糖参照张宪政(1992)的蒽酮比色法;脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白分别参照李合生(2003)的茚三酮显色法、考马斯亮蓝 G-250 法。(6)酶的测定:取 0.5 g 样品于预冷的研钵中,加入预冷的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.8) 3 mL,并加少量石英砂,在冰浴中充分研磨成匀浆,

匀浆液移入 10 mL 离心管中,残渣再用缓冲液冲洗,使终体积为 8 mL,匀浆液于低温离心机上 10 000 r/min 离心 20 min,上清液即为待测液。用于测定过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性及可溶性蛋白含量。超氧化物歧化酶活性测定按李合生(2003)的氮蓝四唑(NBT)法。过氧化物酶(POD)参照李杨瑞(1990)的方法进行测定。

2 结果与分析

2.1 对蔓性千斤拔种子发芽指标与苗长的影响

由表 1 可知,充分吸胀后的蔓性千斤拔种子在 2%~6% PEG 胁迫浓度下最终发芽率差别不大,均在 90% 以上;在 2%~4% 的胁迫强度下,发芽指数比对照高,6% 发芽指数变低,但各处理间并未达到显著性差异;平均发芽速度随着胁迫强度的增大而变快,2%、4% 与对照相比达显著性差异,6% 与对照相比虽未达显著性差异,但亦比对照快;苗长随着胁迫浓度的增强而变短,各处理与对照间以及各处理间均达到显著性差异。

表 1 水分胁迫对蔓性千斤拔种子平均发芽率、平均发芽速度、发芽指数及苗长的影响 ($P < 0.05$)

Table 1 Effect of water stress on seed germination percentage, germination index, mean germination speed and seedling length of *Flemingia philippinensis*

PEG 浓度 Concentration (%)	CK	2	4	6
平均发芽率 (%) Germination percentage	94.25a	92.25a	95.5a	94.25a
发芽指数 Germination index	11.21a	11.43a	11.55a	11.11a
平均发芽速度 (%) Mean germination speed	8.61a	8.19b	8.35b	8.58a
苗长 Seedling length (cm)	2.83a	2.39b	2.25c	2.12d

注:同一行后不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平下差异显著。

Note: Small letters in the same row meant significant difference at 0.05 level.

2.2 对种子萌发可溶性糖的影响

图 1 所示,蔓性千斤拔种子萌发过程中可溶性糖含量呈先下降后上升再下降的趋势,在第 10 天和第 12 天有一次小的增幅。在水分胁迫条件下,可溶性糖随胁迫强度的加强,积累越明显;在第 15 天时,当对照已经处在一个较低的水平时,各胁迫处理都还维持在较高的浓度,2%、4%、6% 与对照相比分别提高了 51%、73%、100%。

2.3 对种子萌发 Pro 含量的影响

从图 2 看出,在水分胁迫环境下,Pro 的积累均

要高于对照,除第4天外,在2%、4%、6%PEG浓度范围内,Pro的积累随着胁迫浓度的加强积累逐渐增加的,特别是在第8天时,6%的胁迫积累明显高于对照及2%、4%胁迫强度,分别高出了95%、56%、46%,在第15天当对照已经处于持续下降的趋势时,胁迫处理却骤然升高,与对照相比分别升高了80%、254%、277%。总体来说水分胁迫下促进了蔓性千斤拔种子萌发过程Pro的积累。

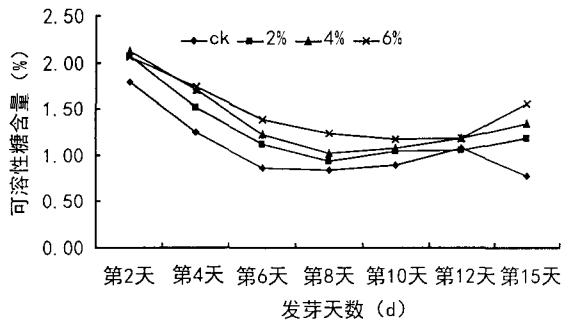


图1 水分胁迫下蔓性千斤拔种子萌发可溶性糖的含量变化

Fig. 1 Changes of soluble sugar content in germinating seeds of *F. philippinensis* under water stress

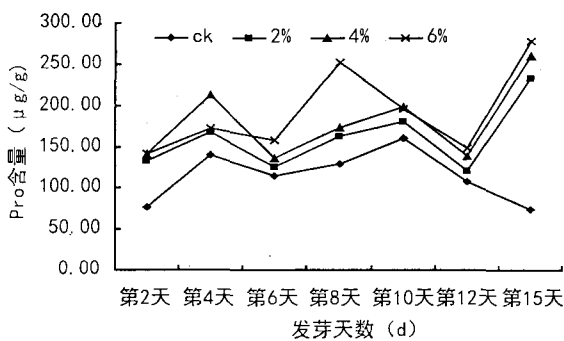


图2 水分胁迫下蔓性千斤拔种子萌发Pro的含量变化
Fig. 2 Changes of Pro content in germinating seeds of *F. philippinensis* under water stress

2.4 对种子萌发可溶性蛋白含量的影响

从图3可知,蔓性千斤拔种子萌发过程中,可溶性蛋白含量总体上呈持续下降的趋势。在水分胁迫下,可溶性蛋白的含量明显高于对照,但各胁迫处理并未随着浓度的加强而成正积累。2%胁迫处理可溶性蛋白积累明显低于4%、6%胁迫处理,而4%与6%胁迫处理并未随着强度加强而增加,从第6天开始,就一直呈现上下交替波动的曲线。在第15天时,胁迫与对照相比分别提高了65%、150%、

115%,4%胁迫浓度比6%高近16%。

2.5 对种子萌发POD活性的影响

从图4可知,POD活性随着水分胁迫强度的加强明显增加,且发芽后期比前期增加明显。第2天时,2%、4%、6%浓度处理之间POD活性相差不大。随着发芽时间的延长,各处理之间POD活性增加明显,第12天时,各处理与对照相比分别增加了60%、94%、136%;第15天时更是分别增加了100%、161%、180%之多。

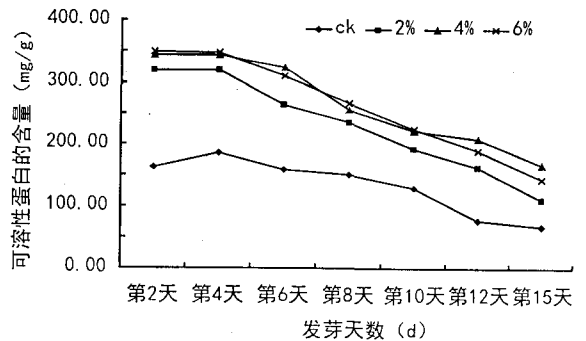


图3 水分胁迫下蔓性千斤拔种子萌发可溶性蛋白的含量变化

Fig. 3 Changes of soluble protein content in germinating seeds of *F. philippinensis* under water stress

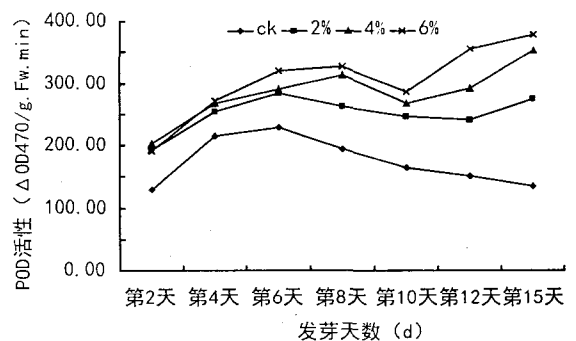


图4 水分胁迫下蔓性千斤拔种子萌发POD的活性变化

Fig. 4 Changes of POD activity in germinating seeds of *F. philippinensis* under water stress

2.6 对种子萌发SOD活性的影响

图5显示,除第10天外,水分胁迫下SOD活性与对照相比明显增强,且随着胁迫强度的加强而增加。第6天时,与对照相比2%~6%胁迫处理SOD活性依次增加了24%、32%、35%;第10天后,当对照SOD活性持续下降的时候,各处理却依然持续增加,在第15天时,各处理与对照相比依次提高了188%、195%、205%,提高了近2倍,但各处理之间

SOD 活性相差不大。

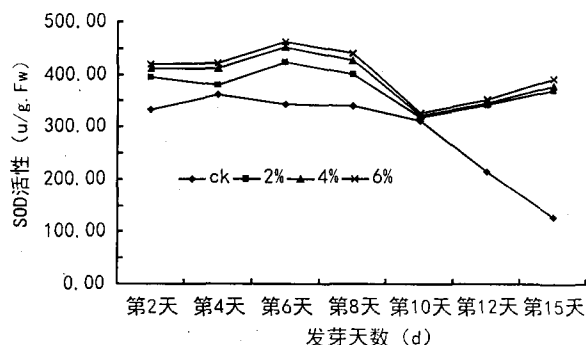


图5 水分胁迫下蔓性千斤拔种子萌发 SOD 的活性变化
Fig. 5 Changes of SOD activity in germinating seeds of *F. philippinensis* under water stress

3 讨论

水分和温度是种子萌发的关键因素,只有种子胚的含水量达到一定阈值时胚细胞才可以萌动,胚根才可以伸长,种子才能萌发(Hegarty, 1977)。郑光华等(1985)的研究认为,由于水分的限制,虽然种子萌发的内在生理生化过程已为萌发作好充足的准备,但在形态建成上仍停滞在“第Ⅱ阶段”,一旦条件合适,便可迅速突破种皮而萌发生长。本试验表明,充分吸胀后的蔓性千斤拔种子在一定强度的水分胁迫下萌发,对种子发芽率、发芽指数的影响不大,且发芽速度亦比对照要快而齐;但水分胁迫对苗高的影响却随着强度的加大而越加明显。说明一定范围内的胁迫,有利于种子萌发过程的渗透调节,以及萌发物质积累的一致性,一旦满足萌发所需要条件,种子便能集中萌发。而当胁迫超过一定的范围,则对种子萌发造成不利。

水分胁迫时植物体内积累各种有机和无机物质如可溶性糖、脯氨酸、甜菜碱等,以提高细胞液浓度,由于细胞内溶质增多,渗透势下降,植物就可以从外界继续吸水维持膨压,使植物生理过程正常进行(汤章城, 1983)。本试验表明,水分胁迫下,各胁迫强度均促进了蔓性千斤拔种子萌发过程中可溶性糖、Pro 及可溶性蛋白的积累;在发芽第 15 天时,最高胁迫浓度 6% 时可溶性糖与 Pro 的积累与对照相比甚至提高了 1~2 倍之多,而可溶性蛋白的积累却是 6% 胁迫比 4% 胁迫要低。说明水分胁迫条件下,为了维持蔓性千斤拔种子的正常萌发,能够积累更多的渗透调节物质,以维持正常的生理代谢。

植物在水分胁迫下,活性氧自由基的产生能力增强,特别是 O₂ 的产生速率增加,生成量持续增大。细胞内活性氧自由基的清除方式是多种多样的,其中之一便是酶促活性氧自由基清除系统,它包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等。本试验中,水分胁迫下,蔓性千斤拔种子萌发过程中 SOD、POD 活性明显增加,且随着胁迫强度的加强明显增加。说明在水分胁迫条件下,蔓性千斤拔种子具有较高活性的膜保护酶系统。

参考文献:

- 李合生. 2003. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 167—169, 184—185, 258—260
- 李杨瑞. 1990. 甘蔗组织中过氧化物酶活性及其与工艺成熟期的关系初探[J]. 广西农学院学报, (1): 13—18
- 张宪政. 1992. 作物生理研究法[M]. 北京:农业出版社, 150—152
- Chen M(陈敏), Luo SQ(罗思齐), Chen JH(陈钧鸿). 1990. Studies on the chemical constituents of *Flemingia philippinensis* (蔓性千斤拔化学成分的研究)[J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 26(1): 42—48
- Chen Y(陈一), Li KS(李开双), Huang FJ(黄凤娇). 1993. The analgesia and anti-inflammatory effect of *Flemingia philippinensis* (千斤拔的镇痛和抗炎作用)[J]. *Guangxi Med J* (广西医学), 15(2): 77—79
- Feng SX(冯世鑫), Ma XJ(马小军), Shi LJ(施力军), et al. 2007. Environmental quality assessment of the GAP base of *Flemingia philippinensis* (蔓性千斤拔 GAP 基地环境质量评价)[J]. *Res Practice Chin Med* (现代中药研究与实践), 21(5): 6—7
- Hegarty TW. 1977. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: A review[J]. *Plant Cell Environ*, 78: 349—359
- Ke F(柯芳), Shi LJ(施力军), Ma XJ(马小军), et al. 2007. Study on the introduction and cultivation of *Flemingia philippinensis* (蔓性千斤拔引种栽培的研究)[J]. *China J Chin Mat Med* (中国中药杂志), 32(2): 143—144
- Meng AD(蒙爱东), Huang XY(黄雪彦), Huang MR(黄美荣). 2005. Tissue culture and rapid propagation of *Flemingia philippinensis* (蔓性千斤拔的组织培养和快速繁殖)[J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 41(5): 640
- Michel BE, Kaufmann MR. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000[J]. *Plant Physiol*, 51: 914—916
- Rao WW(饶伟文), Huang JK(黄建楷), Wen ZF(温志芳), et al. 1999. A survey on the varieties of *Flemingia* and comparison of their respective quality (千斤拔的品种调查与质量研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs* (中草药), 30(3): 219—222
- Tang ZC(汤章城). 1983. The plant reaction and adaptability under water stress (植物对水分胁迫的反应和适应性)[J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), (4): 1—7
- Wei YZ(韦裕宗). 1991. The classification and distribution of the genus *Flemingia* in China (中国千斤拔属植物的初步研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), 11(3): 193—207
- Zheng GH(郑光华), Xu BM(徐本美), Gu ZH(顾增辉). 1985. Priming effect of PEG on seed germination (PEG“引发”种子的效果)[J]. *J Integrative Plant Biol* (植物学报), 27(3): 329—333