

杜梨种子休眠与萌发过程中酶活性变化

李军霞¹, 吴翠云²

(1. 农二师二十九团 4 连, 新疆 库尔勒 841008; 2. 塔里木大学 植物科技学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘 要:以野生杜梨种子为试验材料, 分别用 200 mg/L 6-BA 溶液和 1 000 mg/L GA₃ 溶液处理杜梨种子, 以清水为对照, 同时低温处理杜梨种子, 用未处理的种子作对照, 测定杜梨种子的萌发和种胚及种皮的过氧化物酶、 α -淀粉酶、多酚氧化酶的活性的活性, 以分析种子与萌发机理, 寻找打破杜梨种子休眠促进萌发的最佳方法。结果表明: 种皮的多酚氧化酶活性显著高于种胚的酶活性; 低温或激素单独处理, 种胚和种皮的多酚氧化酶的活性均无明显变化; 但低温和激素处理则能诱导种胚和种皮的 α -淀粉酶的活性, 同时低温和激素处理能促进种胚和种皮的过氧化物酶活性的提高。

关键词:杜梨; 种子; 休眠; 萌发; 酶活性

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)11-0021-04

近年来, 在自治区“退耕还林, 以果治荒”政策指引下, 新疆大力发展林果业, 香梨等新疆优质水果也得到进一步的发展, 然而, 传统香梨苗木繁育需要以野生杜梨做砧木, 而杜梨种子采收后必须低温处理, 翌年春季播种, 不仅费工费事, 而且种子在砂藏期间常发生霉烂或因时间把握不好影响正常解除休眠。有研究表明, 常规破除种子休眠的主要措施是低温层积和激素处理。据报道, GA₃ 可以代替部分低温, 促进野牛草种子发芽, 提高淀粉酶活性^[1]; 6-BA 除具有促进种子萌发的作用外, 主要作为解除阻碍发芽抑制剂 ABA 的作用所必需^[2]。萌发是通过种子内几乎所有酶系统活性的增加和新酶系统的出现为征兆的^[3]。该试验通过不同的低温处理和各种激素处理, 测定其过氧化物酶、 α -淀粉酶、多酚氧化酶活性变化。以寻找杜梨种子萌发与酶活性间的关系, 分析种子与萌发机理, 找出打破杜梨种子休眠促进萌发的最佳方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于 2005 年 10 月在塔里木大学校园采集杜梨果实, 发酵使果肉变软, 取出种子。

1.2 试验方法

将种子置于 4℃ 低温下处理 10、20、30、40、50、60 d,

测定种胚和种皮中过氧化物酶、 α -淀粉酶、多酚氧化酶活性变化, 用未经低温处理种子作对照; 同时用 200 mg/L 6-BA 溶液和 1 000 mg/L GA₃ 溶液处理杜梨种子, 用清水作对照。先将种子分别在 6-BA 溶液、GA₃ 溶液、清水中浸泡 24 h, 测定其种胚与种皮的过氧化物酶、 α -淀粉酶、多酚氧化酶活性变化; 再将浸泡 24 h 后的种子置于 25℃ 培养箱中培养 24 h, 测定其种胚与种皮的过氧化物酶、 α -淀粉酶、多酚氧化酶活性变化。

1.3 测定方法

1.3.1 过氧化物酶活性测定 过氧化物酶活性测定采用比色法^[4], 因试验所需将试验样液的体积扩大为原试验的 2 倍, 在 470 nm 处比色。试验取种胚和种皮各为 2 g 和 1.5 g 进行测定, 4 次重复。

1.3.2 α -淀粉酶活性测定 淀粉酶活性按 3,5-二硝基水杨酸测定^[5], α -淀粉酶活性测定是将酶提取液在 70℃ 下加热 15 min 以钝化 β -淀粉酶, 然后与淀粉酶总活性平行测定, 以每 5 min 内 1 g 种子(鲜重)产生 1 mg 麦芽糖为 1 个淀粉酶活性单位。试验中种胚和种皮各取 1.5 g 进行测定, 4 次重复。

1.3.3 多酚氧化物酶活性测定 多酚氧化物酶活性测定采用比色法^[5], 种胚和种皮分别在研钵中研磨至匀浆, 各取 5 g 和 2.5 g 进行测定, 以 1 min 内 OD₅₂₅ 值变化 0.01 为 1 个酶活力单位。

2 结果与分析

2.1 低温处理对杜梨种子酶活性的影响

2.1.1 低温处理后杜梨种子的种胚和种皮的过氧化物酶活性变化 从图 1 可知, 经过不同时间的低温处理, 种胚和种皮的过氧化物酶活性有很大的变化。但低温处理的不同时间种胚的过氧化物酶活性总是高于种皮

第一作者简介:李军霞(1981-), 女, 新疆库尔勒人, 本科, 助理农艺师, 现主要从事香梨的栽培管理技术研究工作。E-mail: lijunxia518@163.com。

责任编辑:吴翠云(1975-), 女, 新疆阿拉尔人, 硕士, 教授, 现主要从事果树栽培生理研究工作。E-mail: wcyby@163.com。

基金项目:塔里木大学校长基金资助项目(TDZKSS05007)。

收稿日期:2011-03-28

的活性。未处理的种子于低温 10 d 后其种胚和种皮的活性变化较明显,呈明显的下降趋势,其中以种胚变化更为明显。低温 10~30 d,种胚和种皮的活性变化比较平缓,但在低温 30 d 后,种胚的活性变化呈上升趋势,但

种皮的活性呈缓和的上升。说明在低温处理过程中种胚和种皮的过氧化物酶活性呈上升趋势,并且种胚的活性显著高于种皮的酶活性。从种胚和种皮的过氧化物酶活性看,种胚的酶活性高于种皮的酶活性。

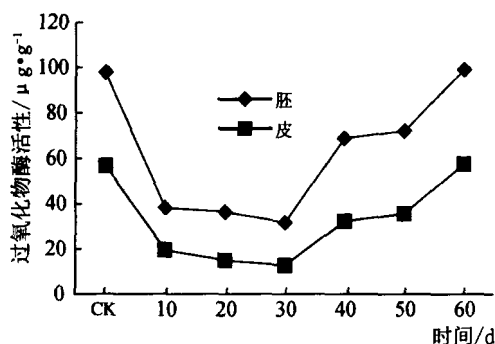
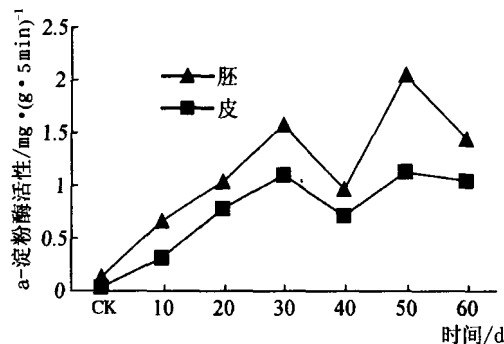


图1 低温处理后杜梨种子过氧化物酶和 α -淀粉酶活性变化



2.1.2 低温处理后杜梨种子的种胚和种皮的 α -淀粉酶活性变化 低温处理后种胚的 α -淀粉酶活性高于种皮的 α -淀粉酶活性。并且在低温 30 d 和 50 d 为 2 个转折点,这 2 个点两边都有升有降的趋势。与未处理的种子相比,低温处理后随着处理时间的推移,种胚与种皮的 α -淀粉酶活性呈上升趋势,并且种胚的变化趋势显著于种皮的变化趋势。说明在低温处理过程中,种胚和种皮的 α -淀粉酶活性的酶活不断增加。

2.1.3 低温处理后杜梨种子的种胚和种皮的多酚氧化酶活性变化 从图 2 可知,种胚和种皮的多酚氧化酶活性变化比较缓和,并且种皮的多酚氧化酶活性显著高于种胚的多酚氧化酶活性。与未处理的种子相比,低温处理后种皮的多酚氧化酶活性有上升趋势但不是很明显。而且种胚与种皮的多酚氧化酶活性差距较大,种皮的活性约为种胚活性的 2 倍,种胚酶活性变化近似为一条直线。说明在低温处理过程中,种胚与种皮的多酚氧化酶活性都有上升趋势,但不明显,并且种皮的酶活性强于种胚的酶活性。

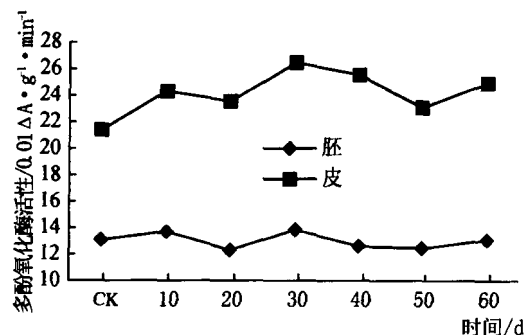


图2 低温处理后杜梨种子多酚氧化酶活性变化

2.2 激素处理对杜梨种子酶活性变化的影响

2.2.1 6-BA、GA₃ 处理(清水对照)后杜梨种子种胚和种皮的过氧化物酶活性变化 从图 3 可知,用 6-BA 处

理后其种胚的过氧化物酶活性呈明显的上升趋势,并且高于对照种胚过氧化物酶活性。但种皮的过氧化物酶活性始终低于对照种皮酶活性,6-BA 处理后其种皮的酶活性与对照相比无明显变化,2 条线几乎平行。从图 4 可知,用 GA₃ 处理后种胚过氧化物酶活性变化很明显,在第 1、2 天种胚过氧化物酶活性变化不明显,但在第 2 天后种胚过氧化物酶活性呈上升趋势。用 GA₃ 处理后的第 1 天种皮过氧化物酶活性呈明显的下降趋势,到第 2 天后种皮的过氧化物酶活性与对照相比变化不明显,甚至第 2 天的酶活性低于对照。从种胚、种皮的过氧化物酶活性看,种胚的过氧化物酶高于种皮;从处理效果看,用 GA₃ 处理后其种胚和种皮的酶活性显著高于 6-BA 处理。并且 6-BA、GA₃ 处理后种胚的过氧化物酶活性显著高于对照的种胚过氧化物酶活性,但 6-BA、GA₃ 处理后种皮过氧化物酶活性与对照相比变化不明显。说明用 6-BA、GA₃ 处理能显著提高种胚的过氧化物酶活性,但对种皮酶活性变化无明显影响。

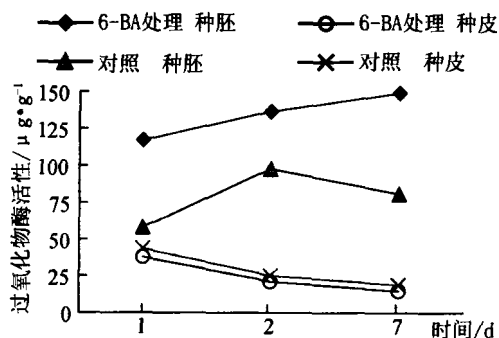
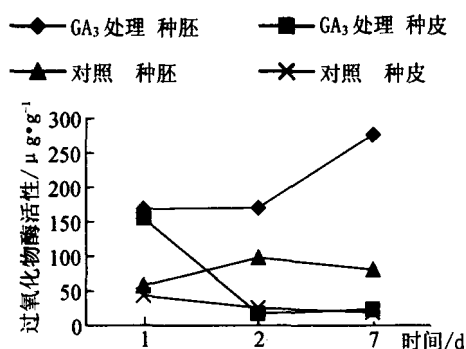
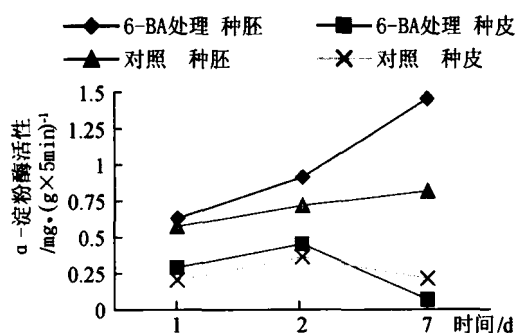
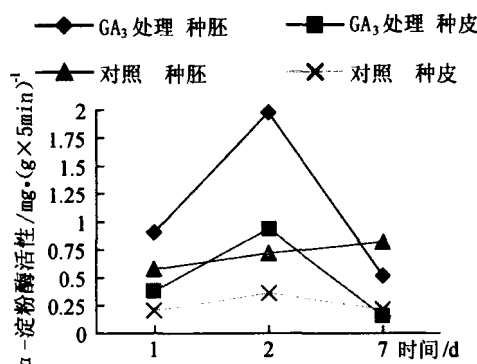


图3 6-BA 处理后过氧化物酶活性变化

2.2.2 6-BA、GA₃ 处理(清水对照)后杜梨种子种胚和种皮的 α -淀粉酶活性变化 从图 5 可知,用 6-BA 处理后种胚的 α -淀粉酶活性也呈明显的上升趋势,在处理后

图4 GA₃处理后过氧化物酶活性变化

的第1天种胚的 α -淀粉酶活性与对照的种胚酶活性差距不大,但在第2天以后呈明显的上升趋势;用6-BA处理后种皮的 α -淀粉酶活性有所下降,在第1,2天与对照几乎成平行关系,但第2天以后呈明显的下降趋势,甚至在第7天低于对照种皮的 α -淀粉酶活性。从图6可知,用GA₃处理后种胚的 α -淀粉酶活性变化很明显,在第2天是个转折点,第1天以后呈明显的上升趋势,但第2天以后呈明显的下降趋势,但种胚的 α -淀粉酶活性仍远远高于对照种胚酶活性;用GA₃处理后种皮的 α -淀粉酶活性变化与种胚变化很相似,几乎与种胚酶活性变化是平行变化。从种胚和种皮的 α -淀粉酶活性看,种胚的 α -淀粉酶活性高于种皮的酶活性;从处理效果看,GA₃处理后种胚和种皮的 α -淀粉酶活性显著高于6-BA处理;从各自的变化幅度看,种胚的变化幅度大于种皮的变化幅度。

图5 6-BA处理后 α -淀粉酶活性变化图6 GA₃处理后 α -淀粉酶活性变化

2.2.3 6-BA、GA₃处理(清水对照)后杜梨种子种胚和种皮的多酚氧化酶活性变化 从图7可知,用6-BA处理后种胚的多酚氧化酶活性几乎无明显变化。与对照相比,6-BA处理后第1天种胚的酶活性高于对照的种胚多酚氧化酶活性,几乎为对照酶活性的2倍。但从第2天起则低于对照种胚多酚氧化酶活性;处理后的种皮多酚氧化酶活性则始终低于对照种皮酶活性,在第1天种皮的酶活性呈上升趋势,但第2,7天与对照变化不明显,几乎呈平行关系。从图8可知,用GA₃处理后种胚的多酚氧化酶活性几乎无明显变化,与对照相比用GA₃处理后的第1天种胚酶活性显著高于对照种胚酶活性,几乎为对照酶活性的4倍。但从第2天起则与对照无明显变化;用GA₃处理后种皮的多酚氧化酶与对照无明显变化,在第7天高于对照种皮酶活性。从种胚和种皮的多酚氧化酶活性看,种皮多酚氧化酶活性高于种胚酶活性;从处理效果看,6-BA和GA₃处理效果几乎是相同的;从各自的变化幅度看,种胚和种皮的变化幅度都不大。

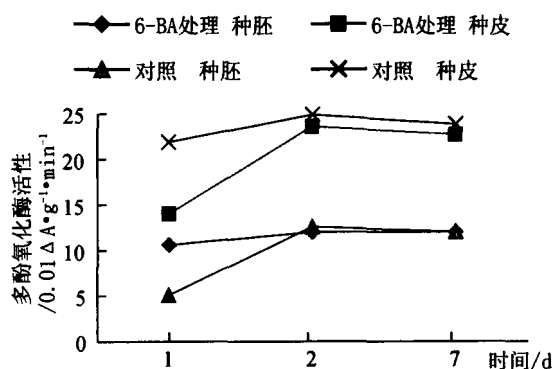
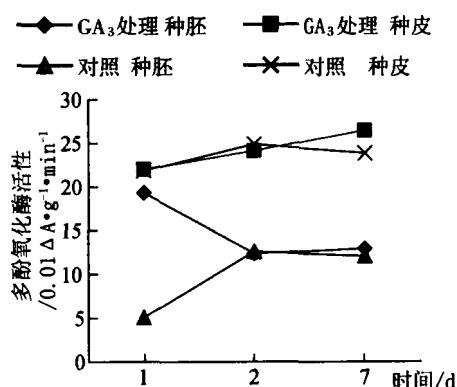


图7 6-BA处理后多酚氧化酶活性变化

图8 GA₃处理后多酚氧化酶活性变化

3 结论

郭明军等^[6]认为,过氧化物酶活性的提高对休眠的解除有显著的促进作用,在低温30 d以后种胚和种皮的过氧化物酶活性变化较显著,都呈明显的上升趋势。可以说低温30 d以后杜梨种子的休眠性越来越弱,即将解除休眠转而萌发。齐永顺等^[7]认为,用GA₃处理24 h

可极显著提高试验种子的过氧化物酶活性,激素处理试验中用 GA_3 处理种子后种胚过氧化物酶活性极显著高于用 6-BA 处理后种胚酶活性,但种皮过氧化物酶活性并无明显的变化。可以说种皮过氧化物酶活性没有显著提高,可能是抑制种子萌发的主要原因。激素处理打破了种胚的休眠,但种皮的抑制作用并未解除。说明低温一定时间能够显著提高种胚和种皮的过氧化物酶活性,对种子的休眠解除具有促进作用;但是 6-BA 和 GA_3 处理能够显著改善种胚的过氧化物酶活性,但因种皮的抑制作用,仍然不能彻底解除种子的休眠作用。

GA_3 能打破种子休眠,与其诱导水解酶(如 α -淀粉酶)的合成和促进水解酶的分泌有关^[8],激素处理试验中用 GA_3 处理后种胚和种皮的 α -淀粉酶显著高于 6-BA 处理和对照。无论是种子萌发过程中产生的,还是由于激素作用而诱导产生的 α -淀粉酶其活性与种子的萌发成正相关^[9],即淀粉酶活性强的,种子休眠性弱^[8],该试验中低温处理随着时间的推移,种胚和种皮的 α -淀粉酶活性呈明显的上升趋势,但在 30 d 以后有所变化。激素处理后种胚和种皮的 α -淀粉酶都有所变化,特别是 GA_3 处理后其种胚和种皮的酶活性显著高于 6-BA 处理效果。说明无论低温或激素处理都能显著提高种胚的 α -淀粉酶活性,但是种皮的酶活性变化不大,可以说种皮抑制了种子的萌发或种胚中含有抑制萌发的物质。无论低温或是激素处理只能诱导 α -淀粉酶活性的产生。但要彻底打破休眠转入萌发还需要进一步研究。

酚类物质是一些种子发芽的抑制物^[7],杨晓玲等认为,层积后多酚氧化酶活性显著提高,有利于酚类物质的氧化,种子中酚类物质含量降低^[10],该试验中经低温处理种胚的多酚氧化酶活性变化不明显近似为一条直

线。但种皮的酶活性远远大于种胚酶活性,约为种胚酶活性的 2 倍。 GA_3 处理能 6-BA 处理效果提高山楂种子过氧化物酶和多酚氧化酶活性^[11],从而促进酚类物质的氧化,该试验中激素处理后 GA_3 处理效果优于 6-BA 处理效果,说明酚类物质因氧化而减少。抑制物减少有利于种子的萌发,但是种皮的酚类物质高于种胚。 GA_3 和 6-BA 处理能够打破种皮的抑制作用,但种胚仍处于休眠中而未能及时萌发。

参考文献

- [1] 徐绍颖. 植物生长调节剂与果树生产[M]. 上海:上海科技出版社, 1987:253.
- [2] 郑光华,史忠礼,赵同芳,等. 实用种子生理学[M]. 北京:农业出版社, 1990:277-301.
- [3] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 2001.
- [4] 高俊凤. 植物生理实验指导技术[M]. 北京:世界图书出版, 2000:192
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:北京科学出版社, 1999:188,317.
- [6] 郭明军,杨晓玲. 山楂种子 POD 活性及其同工酶的变化与休眠的关系[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1997, 11(3):25-28.
- [7] 齐永顺. 山楂种子休眠与萌发生理研究Ⅲ. 化学药剂对山楂种子萌发的影响[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1997, 11(1):1-4.
- [8] 曹雅君,江玲. 水稻品种休眠特性研究[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(2):1-5.
- [9] 郭秀璞,高书颖. 小麦种子萌发和幼苗生长与 α -淀粉酶活性关系的研究[J]. 沈阳农专学报, 1995, 15(2):28-30.
- [10] 杨晓玲,张培玉. 山楂种子休眠与萌发生理研究Ⅵ. 层积、GA 及 ABA 处理对山楂种子多酚氧化酶活性的影响[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1998, 12(3):69-71.
- [11] 杨晓玲,张培玉. 山楂种子休眠与萌发生理研究Ⅶ. 层积、GA 及 ABA 处理对山楂种子多酚氧化酶活性的影响[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1998, 12(3):69-71.

The Change of Enzyme Activity in the Dormant and Germination Process of *Pyrus betulaefolia*

LI Jun-xia¹, WU Cui-yun²

(1. The 4th Company of the 29th Regiment in Agricultural Development in Xinjiang, The Second Division, Kuerle, Xinjiang 841008; 2. College of Plant Science and Technology, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300)

Abstract: Used the wild *Pyrus betulaefolia* seed as the material in this experiment, use the 200 mg/L 6-BA and 1 000 mg/L GA_3 aqua dispose *Pyrus betulaefolia* seed, with the clear water as comparison; At the same time with low the temperature disposed *Pyrus betulaefolia* seed and the untreated seed as comparison. Mensurate the activity of peroxidase, α -amylase and polyphenol that embryo and skin of disposal seed. The results showed that whether low temperature or hormone disposal the activity of polyphenol had no obviously change of embryo and skin, the activity of polyphenol in the skin evidence high than the embryo; but low temperature and hormone disposal could induce the activity of α -amylase in the skin and embryo, furthermore the low temperature and hormone disposal could obviously grow the activity of peroxidase.

Key words: *Pyrus betulaefolia*; seed; dormancy; germination; activity of enzyme