

木薯淀粉对人工胚乳性能及 对人工种子发芽率的影响

黄绍兴 黄美娟* 朱 激

(北京大学生物系 北京 100871)

摘 要 研究了四种高聚化合物对人工胚乳性能及对人工种子发芽率的影响。结果表明,1%的木薯淀粉与1.5%的海藻酸钠制作的复合胚乳改善了单一海藻酸钠制作的人工种子胚乳的吸水性,从而提高了人工种子的发芽率

关键词 木薯淀粉,人工胚乳,人工种子,发芽率

人工种子这一新兴的生物技术始于70年代后期。80年代初,美、日、法等国学者都兴趣于人工种子的研究。随着研究工作的进展,人工胚乳基质的研制已经成为人工种子研究中的一个重要课题⁽¹⁾。目前,广泛采用海藻酸钠盐作为人工胚乳基质的较理想的材料,因为它具有无毒、资源丰富、价格便宜及工艺简单等特点。但是,单独采用海藻酸钠作为人工种子的胚乳还存在几方面的缺点:1. 营养物质容易渗漏;2. 透气性差,常阻碍体细胞胚的根和芽的生长;3. 胶粒在空气中容易失水变干,失水后的吸水回胀速率不好;4. 胶粒本身带有粘性,且本身的强度小,因而不便于贮存、运输和播种等^(2,3)。

为了解决上述问题,目前采用两条途径:一条途径是在胶囊中加入某种物质,使养分有控制地释放或减缓泄漏⁽²⁾。另一条途径是在胶囊外围涂上高聚物以形成膜,防止胶囊干燥、减轻粘度⁽⁴⁾。本实验的目的是选用一些无毒、透气性和吸水性强的高聚物与海藻酸钠作混合胚乳,以观察这种混合胚乳对人工种子的发芽和生长的影响。结果表明,加入木薯淀粉后,改善人工种子的透气性及吸水性,提高了人工种子的发芽率。

1 材料和方法

1.1 植物材料

本试验使用的胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 是商用品种日本国分大长人参。按照我们已报道的方法⁽⁵⁾培养胡萝卜体细胞胚。

1.2 高聚物

阳离子聚丙烯胺、阴离子聚丙烯胺、玉米羟丙基二淀粉磷酸脂和木薯淀粉等4种高聚物,由北京大学化学系汪勤慰教授提供。

1.3 人工种子制作

将不同浓度的4种高聚物与1.5%海藻酸钠(1/2MS培养基配制)混合,经高温灭菌后,将胡萝卜体细胞胚进行包埋⁽⁶⁾。以1/2MS液体培养基配制的0.1mol/L CaCl₂作为固

* 通信联系人。

本文于1993年9月17日收到。

化液。用无菌蒸馏水或 1/2MS 液体培养基对包埋的胶粒洗 3 次。所制作的人工种子在无激素 1/2MS 琼脂培养基上进行发芽试验并计算发芽率，或进行保水及吸水性试验。

1.4 人工种子的保水性和吸水回胀速率

将人工种子胶粒分别放在室温 (22—28℃) 自然干燥 10 天或在超净台上吹 6—8 小时作脱水试验，考察人工种子的失水情况，失水越快，说明其保水性越差。失水速率按下列公式表示：

$$\text{失水速率}(\%) = \frac{\text{脱水前重量} - \text{脱水后重量}}{\text{脱水前重量}} \times 100\%$$

将一定失水程度的人工种子胶粒浸泡在水中，考察其重新吸水的能力。吸水回胀速率以下列公式表示：

$$\text{吸水回胀速率}(\%) = \frac{\text{吸水后重量} - \text{吸水前干燥的重量}}{\text{吸水前干燥的重量}} \times 100\%$$

2 结果和分析

2.1 复合胚乳中的 4 种高聚物含量对胡萝卜人工种子发芽率的影响

为了观察 4 种高聚物对体细胞胚有无毒性及成球性，将 4 种高聚物分别与海藻酸钠混合组成复合胚乳，制成人工种子。将制作的人工种子播种在 1/2MS 琼脂培养基上，15 天后统计人工种子发芽率 (表 1)。从表 1 可以看出，本试验所使用的 4 种高聚物在低浓度 (1% 以下) 时对体细胞胚无毒性，发芽率除阴离子聚丙烯酰胺为 68% 以外，其它三种均为 100%，而且阴离子聚丙烯酰胺在浓度 2% 以上时，粘度太大，难以形成球状胶粒。因此，将浓度 2% 以上的阴离子聚丙烯酰胺混合在培养基中，然后将胚接种在培养基上，15 天后观察胚没有存活，可能是粘度太大，透气性差所致。阳离子聚丙烯酰胺在 2% 以上浓度时对胚的生长有抑制作用，发芽率为 29—60%。而含有玉米羟丙基二淀粉磷酸酯或木薯淀粉的复合胚乳制作的人工种子发芽率均为 100%，与对照的相同，说明这两种淀粉在浓度为 0.5—4% 的范围内对人工种子的发芽均无不良影响，从发芽及幼苗生长情况观察有一定的促进作用，这可能是因为所用的两种淀粉改善了海藻酸钠复合胚乳的透气性，从而促进人工种子的发芽和生长。以上结果说明，阴离子聚丙烯酰胺因粘度太大，不宜用于制作人工种子。本试验对筛选出的 3 种高聚物作了保水性及吸水性的进一步试验。

表 1 不同浓度高聚物与海藻酸钠混合制作的复合胚乳对人工种子发芽率的影响

Table 1 Effects of combined endosperm by mixing different concentrations of polymers and alginate on the germination rate of artificial seed capsuts

Ratio of material of artificial endosperm		Effects of mixing different kind of polymer on the germination rate of artificial seeds			
Alginate (%)	Polymers (%)	Cassava starch	Hydroxypropylphosphate bicorn starch	Positive ion polyacrylamide	Negative ion polyacrylamide
1.5	0	100	100	100	100
1.5	0.5	100	100	100	100
1.5	1	100	100	100	68
1.5	2	100	100	60	0
1.5	3	100	100	33	0
1.5	4	100	100	29	0

Each treatment contained 100 artificial seeds.

2.2 复合人工胚乳的保水性和脱水后的吸水回胀性

将浓度为 1% 的 3 种高聚物分别与 1.5% 海藻酸钠混合, 在 0.1mol/L CaCl₂ 溶液中制成人工种子胶粒^[3], 将人工种子胶粒进行脱水比较试验 (表 2)。失水速率越快, 说明保水性越差。从表 2 可看出, 3 种高聚物的保水性与单一海藻酸钠的相比, 只有木薯淀粉脱水较慢, 这可能是木薯淀粉含有较多的亲水基团, 因而脱水较慢。

表 2 不同高聚物与海藻酸钠制作的复合胚乳对人工种子胶粒失水速率的影响*

Table 2 Effects of combined endosperm by mixing different polymers and alginate on the rate of water loss of artificial seed capsules

Type of endosperm	Rate of water loss (%)						
	0	8	16	24	32	46	56 (h)
Alginate (Control)	0	19.6	45.6	64.4	77.9	89.3	95.4
Alginate+Cassava starch	0	17.4	14.1	59.1	70.8	82.3	84.4
Alginate+Hydroxypropyl-Phosphate bicorbh starch	0	16.0	39.0	62.0	72.0	84.0	94.4
Alginate+Positive ion polyacrylamide	0	16.5	39.9	69.2	79.2	81.3	95.8

Each treatment contained 100 artificial seeds.

不同高聚物与海藻酸钠复合胚乳制成的人工种子胶球经干燥后浸泡在水中, 干燥的人工种子胶球即开始回胀。因人工种子胶球所含的胚乳成份不同而显示出不同的吸水回胀速率 (图 1)。从图 1 可看出, 阳离子聚丙烯酰胺具有阻碍人工种子吸水的作用, 而玉米羟丙基二淀粉磷酸酯和木薯淀粉则有利于人工种子吸水, 以木薯淀粉的吸水性最好。木薯淀粉与海藻酸钠复合胚乳人工种子胶球在吸水 10 小时后, 吸水回胀速率为 177%, 而单一海藻酸钠的人工种子的吸水速率仅为 81%。两者相比, 前者的吸水能力为后者的 2.2 倍。当吸水 25 小时后, 有些木薯淀粉与海藻酸钠复合胚乳制作的人工种子胶球已裂开, 表明这种巨大的吸水能力是由木薯淀粉赋予的。因此, 用木薯淀粉作复合胚乳的组成部分可以弥补单一海藻酸钠

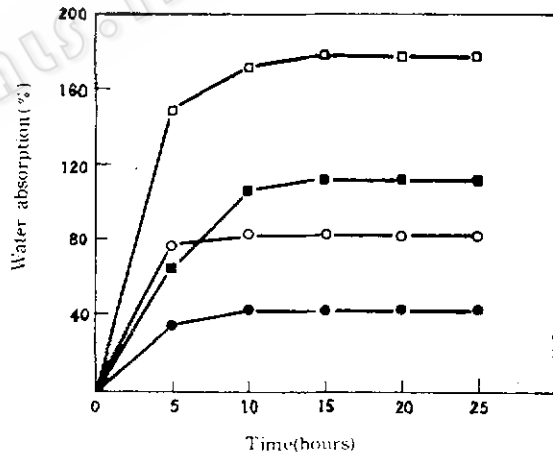


图 1 不同高聚物与海藻酸钠复合胚乳制成的人工种子干燥后的吸水回胀曲线

Fig. 1 Water-absorption curves of desiccated artificial seeds consisted of complexed endosperm of alginate and different polymers

Cassava starch (—□—), Hydroxyl-propyl-phosphate bicorn starch (—■—), Alginate (control) (—○—), Positive ion polyacrylamide (—●—)

的吸水性能上的不足。

用木薯淀粉与海藻酸钠混合制作的人工种子胶球经干燥至失水 90%，当重新吸水时可恢复原状，达到脱水前的原重量或体积（图版 1-A—C），甚至吸收更多的水份，以致于出现涨裂的现象（在水中浸泡 25 小时以上）。而单一海藻酸钠人工种子干燥后再吸水，即使在水中浸泡 50 小时也不能恢复干燥前的重量或体积（图版 1-2A—C）。这一结果与许光学等的结果相似^[9]。这也许就是单一组分海藻酸钠作人工种子胚乳时，胶粒经脱水处理后影响人工种子发芽率的原因之一。

2.3 复合人工胚乳中木薯淀粉对人工种子发芽率的影响

图 2 显示经过干燥脱水至不同失水率的木薯淀粉改性海藻酸钠的复合胚乳与单一海藻酸钠胚乳包制的人工种子发芽试验的结果。从图 2 可以看出，当失水率在 80%，人工种子发芽率迅速下降，在失水率为 80% 以内，发芽率均在 70% 以上。这表明胡萝卜人工种子干燥失水率临界度为 80%，在相同失水率下，木薯淀粉改性的复合胚乳包埋的人工种子，其发芽率明显高于用海藻酸钠单一组分包制的人工种子的发芽率，这是由于复合胚乳干燥后吸水速率高的缘故。

2.4 木薯淀粉改性的复合胚乳对干燥体细胞胚发芽率的影响

用木薯淀粉改性的海藻酸钠复合胚乳包裹经室温干燥贮存 90 天的胡萝卜静止状态体细胞胚^[6]制成人工种子。将人工种子在超净台上吹 6—8 小时使其脱水至不同的失水率，得到不同干燥程度的人工种子。测定发芽率作为人工种子活力的参数，结果列于表 3。从表 3 可以看出，木薯淀粉改性的复合人工胚乳包埋干燥体细胞胚制成的人工种子，在相同失水率下，其发芽率明显高于用海藻酸钠单一组分包埋干燥体细胞胚制成的人工种子的发芽率。在失水率为 50% 的情况下，前者的发芽率为后者的 2 倍以上，与未包埋的体细胞胚的发芽率相一致，这可能是因为复合胚乳干燥后的吸水回胀速率较高，从而促进体细胞的萌发。

本试验研究了 4 种高聚物与海藻酸钠混合的复合胚乳对人工种子发芽率的影响，从中筛选出一种木薯淀粉改性的新型复合人工胚乳基质，实验结果表明，木薯淀粉改善了海藻酸钠胶粒的透气性和吸水性，并为人工种子中的体细胞胚提供部分营养物质，从而提高人工种子的发芽率。

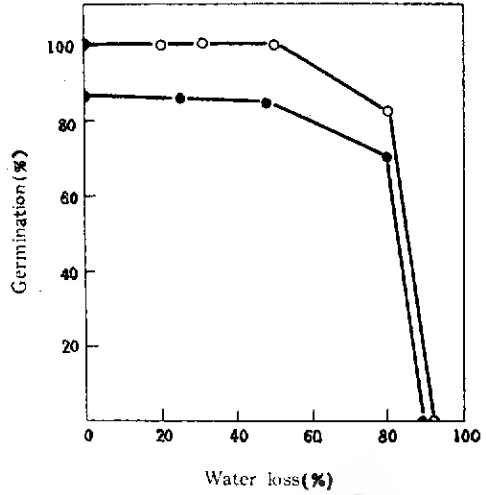


图 2 人工种子胶粒的失水率对人工种子发芽率的影响
Fig. 2 Effects of the rate of water loss of artificial seed capsules on the germination rate of artificial seeds
Complexed endosperm (---○---), Alginate (control) (---●---)

表 3 不同失水率对干燥体细胞胚所制作的人工种子发芽率的影响

Table 3 Effects of various rate of water loss on the germination rate of artificial seeds made from desiccated somatic embryos

Water loss (%)	Effects of complexed endosperm modified by cassava starch on the germination rate of artificial seed			Effects of alginate on the germination rate of artificial seed		
	Number of artificial seeds	Number of germination	Rate of germination (%)	Number of artificial seeds	Number of germination	Rate of germination (%)
0	50	34	68	50	20	40
25	50	26	52	50	22	44
50	50	44	88	50	17	34
75	50	30	60	50	26	52
90	50	18	36	50	15	30
Uncoated embryo	100	88	88	100	88	88

3 讨 论

Redenbaugh 等^[1]在对人工种子包埋基质的研究中发现,用海藻酸钠作人工胚乳得到的人工种子,其发芽率和植株转换率均比未包埋的体细胞胚的低。我们观察到有一些存活的体细胞胚即使发芽,但长成的幼苗也呈畸形。这可能是由于海藻酸钠透气性差所致。我们用木薯淀粉改性海藻酸钠,得到透气性好的复合胚乳。用这种复合胚乳包埋的人工种子发芽率明显优于单一海藻酸钠包埋的人工种子的发芽率。

木薯淀粉改性的复合人工胚乳,脱水和吸水过程是可逆的,这对人工种子的干燥贮藏、运输和机械播种很有意义。可以像天然种子那样,将人工种子脱水到体细胞胚存活的临界状态后再贮存,这样可以延长贮存时间。复合胚乳具有这样的特点是由木薯淀粉的结构赋予的。因为该材料含有较多亲水基团,因而脱水较慢,而脱水后的具有吸水回胀速率也很好,试验的结果证明了这一点。许光学等^[7]用纤维素衍生物 A 与海藻酸钠复合进行改性,也改善了人工种子的保水及吸水性能。

木薯淀粉含支链淀粉和直链淀粉,淀粉的分子结构中有很多空隙,当淀粉与海藻酸钠混合后,改变了海藻酸钠的致密结构,而代之以一种较为疏松的结构。所以,海藻酸钠中加入木薯淀粉后,改善了海藻酸钠的透气性。

淀粉还是植物的贮藏物质,可为体细胞胚提供部分营养物质。由此说明,木薯淀粉与海藻酸钠混合后,不仅改善了海藻酸钠的透气性、保水性和吸水性,而且可为人工种子胶粒中的体细胞胚提供部分营养物质,从而提高人工种子的发芽率。

当然,这种木薯淀粉改性的复合胚乳的保水性还不够理想。如果在木薯淀粉的分子

量和亲水基团的含量方面作进一步的研究, 可望获得更好的保水性和吸水性。此外, 这种改性的海藻酸钠复合胚乳只是改善了单一海藻酸钠的透气性和吸水性, 而海藻酸钠的其它缺点如营养物质易渗漏、强度小等仍需采用其他的如寻找合适的人工种子的种皮包裹复合胚乳等方法来解决。

参 考 文 献

- [1] Redenbaugh K, Slade D, Viss P *et al.* Hortsci, 1987, 22 (5): 803-809.
- [2] 许光学, 林少琨, 卢泽俭等. 见: 郭仲琛, 桂耀林主编, 植物体细胞胚胎发生和人工种子, 北京: 科学出版社, 1990, 152-159.
- [3] Redenbaugh K, Viss P, Slade D *et al.* In: Green C E *et al.* eds, Plant Tissue and Cell Culture. New York, Alan R. Liss Inc., 1987: 473-493.
- [4] 林少琨, 许光学, 卢泽俭等. 见: 郭仲琛, 桂耀林主编, 植物体细胞胚胎发生和人工种子, 北京: 科学出版社, 1990: 160-165.
- [5] 黄美娟, 黄绍兴, 苏都莫日根等. 科学通报, 1990, 32 (11): 871-877.
- [6] 朱焱, 黄美娟, 牛小牧等. 植物学报, 1993, 38 (6): 550-553.
- [7] 许光学, 林少琨, 卢泽俭等. 生物工程进展, 1990, 10 (5): 14-23.

Effects of Cassava Starch on the Property of Artificial Endosperm and on the Germination of Artificial Seeds

Huang Shaoxing Huang Meijuan Zhu Cheng

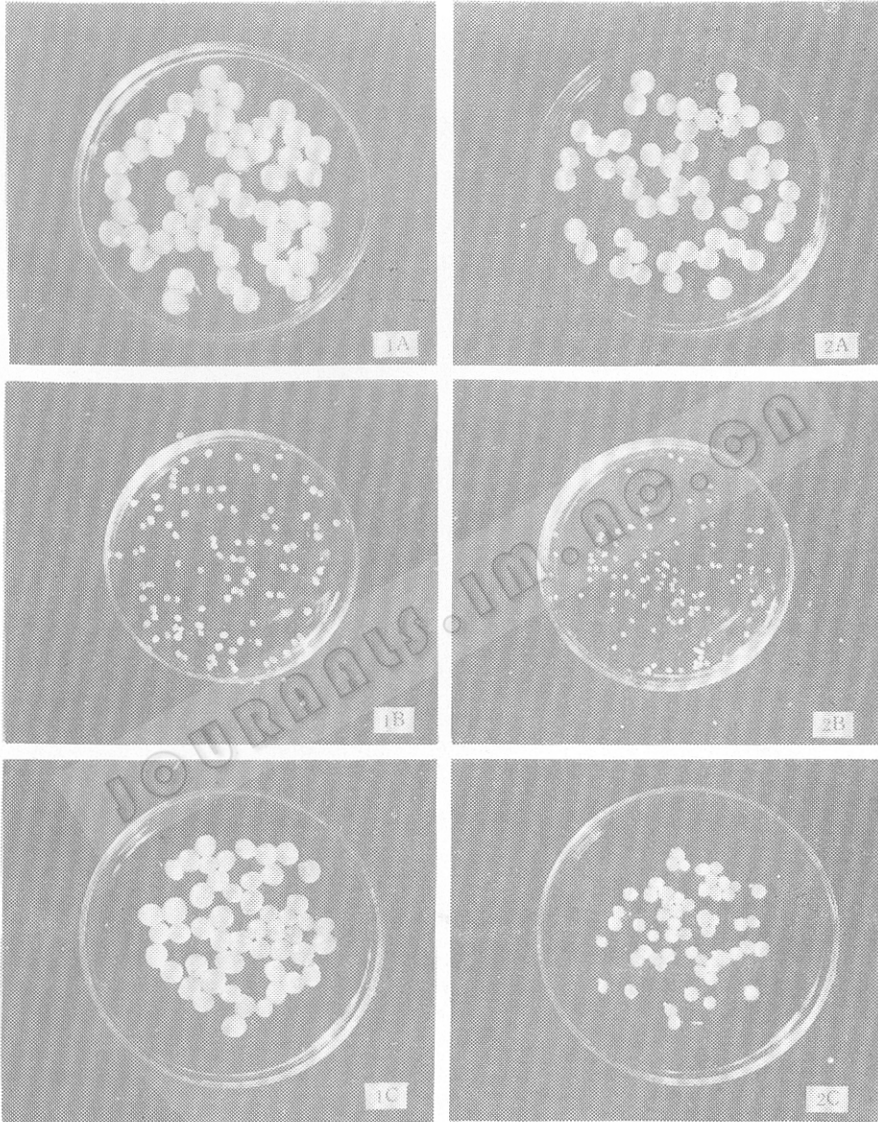
(Department of Biology, Peking University, Beijing 100871)

Abstract Effects of 4 polymers on the property of artificial endosperm and on the germination of artificial seeds were studied. Results showed that complexed endosperm made from 1% cassava starch and 1.5% alginate had improved the property of ventilation and imbibition of artificial seeds made from unique alginate and enhanced the germination rate of artificial seeds.

Key words Cassava starch, artificial endosperm, artificial seeds, germination

Huang Shaoxing *et al.* : Effects of cassava starch on the property of artificial endosperm and on the germination of artificial seeds.

Plate I



1. Artificial seed capsules made with complexed endosperm modified by cassava starch; 1A. Artificial seed capsules before dehydration, $\times 0.42$, 1B. Artificial seed capsules after dehydration, 1C. Dehydrated artificial seed capsules after water absorption.

2. Artificial seed capsules made with alginate only; 2A. Artificial seed capsules before dehydration, 2B. Artificial seed capsules after dehydration, 2C. Dehydrated artificial seed capsules after water absorption.