中山大学学报 (自然科学版)
第 36卷 第 1期 ACTA SCIENTIARUM NATURALIUM Vol. 36 No. 1
1997年 1月 UNIVERSITATIS SUNYATSENI Jan. 1997

衬质渗调对菜心种子的引发效果[20]

吴晓珍 傅家瑞
(中山大学生命科学学院,广州 510275)

摘 要 利用渗调法改善种子的活力,劣变的菜心种子用珍珠岩,锯末和椰糠分别在 15℃预处理 2 d后,其发芽率和简化活力指数均比未引发处理的显著提高,经引发的种子过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶和酸性磷酸酶的活性增强,其种子浸泡液的电导率和紫外吸收值比未引发的明显下降.

关键词 衬质渗调,聚乙二醇,菜心种子,种子活力,酶活性
分类号 Q 945.65

渗调法是改善作物种子萌发、田间生产性能和提高农业产量的有效措施.此法特别适用于在次适温中萌发缓慢的种子,如胡罗卜、甜菜等蔬菜种子以及小粒作物种子,它可以减少种子萌发所需的时间(Khan, 1980, 1981).菜心是我国南方少数地区的特有蔬菜品种,种子劣变是常有的事,在播前应用渗调法提高种子活力在蔬菜栽培中具有重要的现实意义.通常,用聚乙二醇(PEG)提高种子活力[1-4].但因 PEG用量大、成本高,难于推广应用.本文利用持水性较好且方便易得的珍珠岩、锯末和椰糠作为衬质渗调剂(matriconditioning),研究它们对活力较低的菜心种子的引发效果,并与 PEG引发处理的效果加以比较.

1 材料与方法

1.1 实验材料

四九菜心(*Brassica parachinensis*)种子由广东省农科院提供,以此作为对照种子.另将同批种子先置于装有饱和铬酸钾溶液(相对湿度为 85%)的干燥器中平衡 2 d,然后连同干燥器一起放于 40℃恒温箱中,隔一定时间取出种子,即得到人工老化不同天数的种子.

1.2 衬质制备

将珍珠岩、锯末和椰糠分别放于清水中多次泡浸至浸出液变清为止,滤出水分,然后烘干至恒重,取处理后的衬质,以衬质∶水= 2∶1(*w*/*v*)的比例混合均匀过夜,其间翻动 3次,使衬质的含水量充分平衡.种子与衬质相隔的纱布也埋于衬质中过夜.

1.3 引发处理

通过预备实验确定用于引发处理的 PEG浓度为 25%,衬质与水的比例为 2∶1(*w*/*v*),

[20] 收稿日期:1996-05-15 吴晓珍,女,30岁,讲师,现在重庆教育学院生物系工作

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://w

引发处理时间为 2 d,引发处理温度为 15℃.

取人工老化种子 4份,其中 1份浸泡在浓度为 25%的 PEG溶液中,另外 3份分别埋于珍珠岩、锯末和椰糠中,置于 15℃的培养箱中 48 h,之后取出种子放于装有饱和 $LiCl_2$ 溶液的干燥器 (相对湿度为 11%)中 2 d,使引发处理后种子的含水量保持在 10.11%~ 11.84%之间 (基本上与对照种子的含水量相同).

1.4 萌发及活力测定

采用玻板直立法进行发芽实验,每板 50粒种子,3个重复,在 25℃恒温箱中催芽,记录发芽速度及第 3 d胚根+ 下胚轴长度,并计算简化活力指数.

简化活力指数= 发芽率 (%)× (胚根+ 下胚轴)长度 (cm)

1.5 电导率和紫外吸收值测定

取各种处理的种子,用重蒸馏水冲洗数次,吸去浮水,置于装有 50 mL重蒸馏水的三角瓶中,用锡铂纸封盖,3个重复,放于 25℃恒温箱中保温,经常摇动,隔一定时间用 DDS-11A型电导率仪测定浸泡液的电导率 (V),以相对电导率 (△V)表示电解质外渗量.用 751-G型分光光度计分别测出浸泡液在 260 nm及 280 nm处的紫外吸收值 (A).

1.6 酶活性测定

1.6.1 酶液制备 取不同处理的种子,称重后,放于垫有两层滤纸的培养皿中,于 25℃恒温箱中萌发 1 d,在冰浴中研磨,然后定容至 10 mL,匀浆先于 4 000 r/min离心 10 min,小心除去上层脂肪层,上清液再于 13 000 r/min离心 15 min,上清液用作酶活性和可溶性蛋白测定.制备过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)提取液用磷酸缓冲液 (0.05 mol/L, pH 7.8).制备过氧化物酶 (POD)提取液用 Tris-HCl缓冲液 (0.1 mol/L, pH 8.5).制备酸性磷酸酶提取液用 Tris缓冲液 (0.05 mol/L, pH 7.5).

1.6.2 酶活性测定 ① CAT活性测定: 按照罗广华等人的方法 (1989).酶提取液稀释 5倍后,每次取 50μL酶液加 3 mL反应混合液.② SOD活性测定: 按照王爱国等人的方法 (1983).酶提取液稀释 5倍后,每次取 50μL酶液加 3 mL反应混合液.③ POD活性测定: 按照罗广华等人的方法 (1989).酶提取液稀释 2倍后,每次取 50μL酶液加 3 mL反应混合液,测定反应 5 min后的 A值.④ 酸性磷酸酶活性测定: 按照陈润政的方法 (1988).每次取 50μL酶提取液进行测定.

1.6.3 蛋白质含量测定 按 Bradford的方法 (1976).用考马斯蓝 G-250显色后在 595 nm测定 A值以牛血清蛋白作为标准.

2 试验结果

2.1 引发处理对菜心种子发芽率及活力的影响

种子经人工老化处理后,其发芽率及活力指数 (见表 1)均有所下降,老化时间愈长,下降的也愈明显.将人工老化处理不同天数的种子用渗调剂引发处理后,发芽率和简化活力指数均获得提高 (见表 1).说明用渗调剂引发对于提高低活力种子有效. PEG渗调和衬质渗调同样可提高种子活力.从发芽率上看,对于老化 7 d和 10 d的种子,珍珠岩和椰糠的引发效果均高于 PEG.从提高活力指数上看,珍珠岩的效果最好.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://w

表 1　引发处理对提高不同老化时间的菜心种子发芽率及活力指数的效果

Tab. 1 Effects of priming on the increase of germination perentage and vigour index of different ageing *Brassica parachinensis* seeds

引发处理	发芽率 (%)			简化活力指数		
	3 d	7 d	10 d	3 d	7 d	10 d
未引发 (对照 2)	93	86	84	5.01± 0.23	3.93± 0.38	2.76± 0.14
25% PEG	98	97	92	6.47± 0.22	5.95± 0.34	5.01± 0.25
珍珠岩	96	96	99	5.91± 0.16	6.13± 0.19	5.86± 0.33
锯　末	93	94	92	5.82± 0.27	5.10± 0.40	5.10± 0.14
椰　糠	95	99	96	5.77± 0.20	5.79± 0.13	5.00± 0.14

未老化前 (对照 1)种子的发芽率和简化活力指数分别为 97% 和 5.25± 0.36

2.2　引发处理对菜心种子膜透性的影响

图 1表明,种子老化后,其浸泡液的 V和 A都急剧上升,老化时间越长,渗出物质越多.经渗调处理后,种子的 V和 A均比未引发的下降.

2.3　引发处理对种子的有关去氧自由基和膜修复的酶活性的影响

由表 2可见,种子老化后, SOD, CAT, POD和酸性磷酸酶活性均比对照有所下降,尤其是 POD,下降的更急剧,而经过引发处理后,各酶活性均明显提高.

表 2　引发处理对不同老化时间的菜心种子 SOD, CAT, POD和酸性磷酸酶的影响

Tab. 2　Effects of priming on the activities of SOD, CAT, POD and acid phosphatase in *Brassica parachinesis* seeds of different ageing time

/$min^{-1}\cdot mg^{-1}$(蛋白质)

引发处理	SOD			CAT			POD			酸生磷酸酶 ($nmol\cdot min^{-1}\cdot g^{-1}$)		
	3 d	7 d	10 d	3 d	7 d	10 d	3 d	7 d	10 d	3 d	7 d	10 d
未引发 (对照 2)	1.18	1.10	1.05	2.06	1.97	1.75	4.41	4.06	2.72	43.25	42.32	36.57
25% PEG	1.30	1.45	1.21	3.00	2.13	1.92	12.25	9.50	6.27	63.81	47.21	40.42
珍珠岩	1.38	1.55	1.46	3.65	3.54	3.38	14.64	12.46	9.93	68.66	54.49	56.80
锯　末	1.26	1.45	1.30	3.08	2.64	2.64	9.06	8.58	8.07	53.84	56.56	54.22
椰　糠	1.26	1.60	1.15	2.42	2.01	2.01	6.13	4.05	3.09	63.01	77.92	65.80

未老化前 (对照 1)种子 SOD为 1.182, CAT为 2.25, POD为 14.77$min^{-1}\cdot mg^{-1}$(蛋白质);酸性磷酸酶活性为 66.12 $nmol\cdot min^{-1}\cdot mg^{-1}$(蛋白质)

从几种引发处理方法看,锯末和椰糠对老化 3 d的种子处理效果与 PEG相近.珍珠岩引发效果比 PEG更明显.对于老化 7 d的种子,珍珠岩处理提高 SOD, CAT和 POD活性明显高于 PEG,而锯末和椰糠除了对 POD活性的提高略低于 PEG外,其它指标也都高于 PEG.对于老化 10 d的种子,珍珠岩和锯末的引发效果比 PEG明显.椰糠处理的除 CAT外,对 SOD和 POD活性提高均不如 PEG明显.总之,从提高生物体内清除氧自由基的酶系

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://w

统活性看,衬质渗调有明显效果,有些情况还较 PEG引发为好.

各种衬质渗调与 PEG的效果相比,除锯末对老化 3 d的种子的酸性磷酸酶活性提高略低于 PEG处理外,其他处理对酶活性的提高均比 PEG处理的效果显著.

3 讨 论

劣变的菜心种子其发芽率和活力指数均有不同程度的下降,而用渗调剂进行引发处理后,其发芽率和活力指数均比未引发处理的明显提高 (见表 1). PEG引发处理能提高种子的活力.采用衬质渗调剂—— 珍珠岩、锯末和椰糠分别对劣变种子进行引发处理,也有较好的效果.珍珠岩、锯末和椰糠的吸水性能较好,对水分子有一定的牵引作用,可使种子细胞含水量缓慢地提高.起到与 PEG类似的控制种子吸水速度和数量的作用,并且通气性能较好,有利于提前启动一些与萌发有关的生理生化过程.因而在提高劣变种子发芽率和种子活力上的效果与 PEG类似或比 PEG更明显 (见表 1).

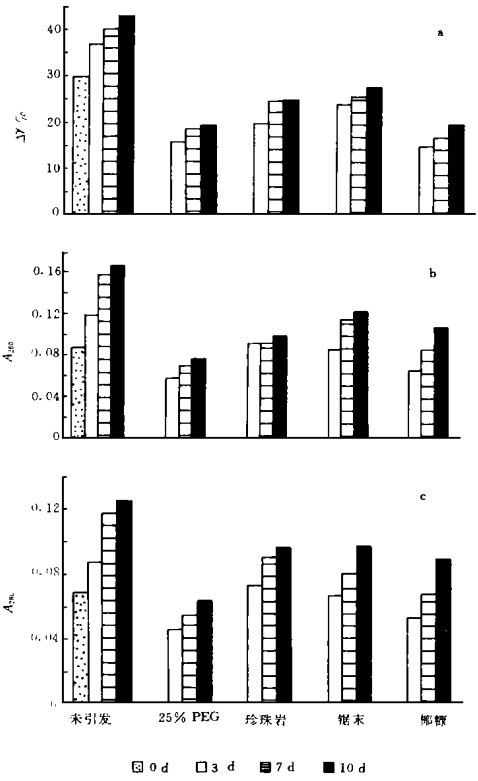

图 1 引发处理对菜心种子 V(a), A_{260}(b)和 A_{280}(c)的影响

Fig. 1 Effects of priming on V(a), A_{260}(b) and A_{280}(c) in soaked solution of *Brassica parachinensis* seed

劣变种子由于膜的完整性受到破坏,引起大量代谢物质外渗,并导致了种子浸泡液 V和 A的增高.在田间育苗中,这些代谢物质的泄漏可能刺激土壤中一些微生物的滋长,侵染种子并导致种子腐烂.应用渗调物质 PEG等能减轻膜的紊乱程度. PEG在许多植物种子能控制水势,使种子有足够时间修补膜系统[3,5].本实验衬质渗调剂也可起到 PEG的作用,使种子的 V和 A均下降,说明衬质渗调也有减轻细胞膜系统损伤的作用.

脂质的过氧化可能是种子劣变的一个直接原因 (Kalogereas, 1958).生物有氧代谢过程中产生氧自由基是必然的,因此必须消除自由基对膜的伤害.生物体中氧自由基主要消除系统是 CAT和 SOD, POD在保护质膜不受过氧化的破坏方面也有一定的作用.本实验中用 PEG和衬质渗调剂处理后,这 3种酶的活性均明显提高 (见表 2).这样可以较完善地保护膜免受自由基伤害.从表 2中还可看出,经渗调处理后,磷酸脂酶活性也显著提高.此酶活性的增加,可加速磷酸脂水解,为各种甘油磷酸脂的合成提供更多的磷酸.在植物体中,甘油磷酸脂主要存在于膜,特别是线粒体膜上,甘油磷酸脂合成加强显然对膜的"修补"是有利的. (梁峥等, 1991).

关于渗透调节剂,有的研究者认为利用固体介质如 Micro-Cel E和膨胀蛭石# 5等在对吸胀和冷伤害敏感的种子预处理渗调时,也许比液体介质如 PEG溶液更适合[6].在 PEG溶

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://w

液中渗调时与水分充分接触对种子来说也许是有害的.固体介质具有高的持水性和大的表面积,可解决在 PEG溶液中高粘度、低氧溶解度的问题,也许更适合发挥渗调的生理优势[7].本实验结果也证实了这一点.无论是从提高发芽率和活力指数还是对膜透性的改变以及提高各种与膜损伤修复有关的酶的活性来看,用珍珠岩、锯末和椰糠引发处理劣变种子都有比 PEG引发处理更显著效果的例证.

参 考 文 献

1 郑光华,徐本美,顾增辉. PEG引发种子的效果.植物学报, 1985, 27(3): 329~ 333

2 郭金铨,陈文涛,杨云珠.聚乙烯醇预处理提高大豆种子活力和抗冷能力的作用.植物生理学报, 1989, 15(3): 251~ 256

3 郑光华.种子吸胀冷害和渗透调控的研究.生物科学动态, 1988(3): 1~ 6

4 Heydecker W, Higgins J, Gulliver R L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. Nature, 1973, 246 42~ 44

5 Fu J R, Lu X H, Chen R Z, et al. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea L.*) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. Seed Sci& Technol, 1988, 16 197~ 212

6 Bennett M A, Waters L. Seed hydration treatmeats for improved sweet corn germination and stand establishment. J Amer Soc Hort Sci, 1987, 112 45~ 49

7 Khan A A, Maguire J D, Abawi G S, et al. matricondition of vegetable seeds to improve stand establishment in early field plantings. J Amer Soc Hort Sci, 1992, 117(1): 41~ 47

8 Khan A A, Miura H, Prusinski J, et al. Matriconditioning of seeds to improve perforemance. In Proc Natl Symp Stand Estab. Hortic Minneapolis, Crops, 1990. 19~ 40

Priming Effects of Matriconditioning on *Brassica parachinensis* L. Seeds

*Wu Xiaozhen**　　*Fu Jiarui*

Abstract Matriconditioning with perlite, saw dust or coconut husk for 48 h at 15℃ offered an effective means for raising germination rate and vigour index in various deteriorated *Brassica parachinensis* seeds. The effect was more remarkable in the lower vigour seeds. Meanwhile, the activity of catalase, superoxidase dismutase, peroxidase and acid phosphatase were enhanced. Electro-conductivity and UV absorption value of treated seeds decreased considerably.

Keywords matriconditioning, polyethylene glycol (PEG), *Brassica parachinensis* seeds, seed vigour, enzyme activity

* School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://w