

高压脉冲电场对番茄陈种子萌发的生物学效应

迟燕平¹, 殷涌光¹, 李婷婷², 王 艳²

(1. 吉林大学 生物与农业工程学院, 吉林 长春 130022 2 吉林农业大学 园艺学院 吉林 长春 130118)

摘 要: 利用正交试验设计和主成分分析方法研究了高压脉冲电场对番茄陈种子萌发的影响。结果表明: 高压脉冲电场可以促进番茄陈种子萌发, 提高种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数, 尤其以发芽势的提高最为显著。通过对试验资料的正交设计方差分析, 可以得出对种子萌发影响最大的因素是种子干湿情况, 其次是场强, 影响最小的因素是作用时间; 当电场强度是 8 kV/cm, 作用时间是 180 s, 作用种子为湿种子, 高压脉冲电场对种子的作用效果最好。高压脉冲电场处理的陈种子中过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶的活性增强, 明显高于对照种子。

关键词: 高压脉冲电场; 番茄陈种子; 萌发; 酶活性

中图分类号: S 641.104⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)04-0038-03

种子是农业生产上最基本的生产资料, 是遗传信息的携带者。种子在贮藏过程中发生老化, 导致种子质量、活力和抗逆性能的降低, 给农业生产造成巨大的经济损失。种子的寿命、生活力或者发芽力和成苗率是表示种子质量的重要指标。通过不同途径保持和提高种子旺盛的生命力, 延长种子寿命, 不仅在生物学上是一个非常值得探讨的问题, 在农业生产上也具有重大现实意义^[1-3]。近年来, 开展了农作物陈年种子活力复苏的系列研究, 期望通过利用生物物理和生物化学手段, 研究它们对不同基础发芽率的农作物陈年种子活力的影响, 为进一步恢复和提高不同基础发芽率的农作物陈年种子活力, 进而更好地为农业生产服务提供试验依据。随着分子生物学和细胞遗传学研究的深入发展, 生物细胞的电磁特性及电磁效应逐渐明确, 环境物理因素特别是外界电磁场对生物体的影响越来越受到重视^[4-5]。白亚乡等人采用高压静电场处理大麦、甜菜等农作物种子, 发现一定强度的静电场能使农作物干种子的自由基含量显著提高, 从而影响种子的活力^[6]。于爱真等用 50 kV/cm 的电场处理水稻、油菜、芝麻种子, 显著地提高了 α 淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶的活性^[7]。吴旭红利用高压静电场处理南瓜种子, 种子发芽率提高了 3.2%~9.7%, 可溶性蛋白的含量明显提高, 种子中 CAT、SOD 等清除自由基的酶的活性增强, 提高了种子活力^[8-9]。李晓静用高压静电场处理番茄种子, 降低了番茄种子电解质的

外渗, 促进了种子的萌发和幼苗的生长^[10]。但是并未见利用高压脉冲电场处理种子的报道。用高压脉冲电场处理贮藏 3 a 的番茄种子, 利用正交试验设计分析, 研究了高压脉冲电场对番茄陈种子萌发及抗氧化酶的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为吉林农业大学蔬菜育种教研室提供的 2006 年番茄新种子和贮藏 5 a 的陈种子。

1.2 试验设备

高压脉冲电场由吉林大学生物与农业工程学院农产品加工课题组自行研制。高电压脉冲电场的设备原理图如图 1, 频率 1 000~5 000 赫兹可调。高压脉冲电源、示波器和处理室是处理种子的工作部件。示波器用来测量脉冲电压、电流及其波形, 高电压脉冲电源产生的脉冲作用于处理室内的电极, 从而对种子进行作用。

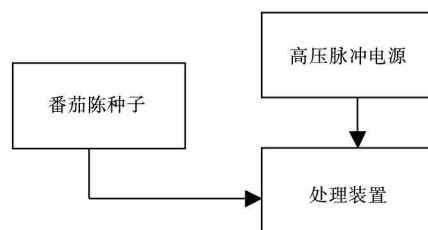


图1 高压脉冲电场装置原理图

1.3 试验方法

2007 年 3 月 20 日将番茄的陈种子进行电场处理采用 $L_{12}(6^1 \times 2^2)$ 正交试验设计方法, 以筛选最佳处理条件, 湿种子是浸泡 2 h 后的种子, 试验处理见表 1。处理后的种子放入 28℃ 的恒温培养箱中进行发芽培养, 测定

第一作者简介: 迟燕平(1977-), 女, 吉林省吉林市人, 在读博士, 研究方向陈种子的利用和研究。E-mail: daping_2002@sohu.com。

通讯作者: 殷涌光。E-mail: biofood@jlu.edu.cn。

收稿日期: 2007-11-26

种子每天的发芽个数和芽长。对于种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数 4 个指标通过主成分分析转换为单指标 Y ，确定指标权重和综合指标公式，从而简化分析过程。

测定种子萌发过程中过氧化氢酶^[1]、过氧化物酶^[1]和超氧化物歧化酶^[1]的活性，并对其进行主成分分析转化为单指标 Z ，简化分析过程。

表 1 试验因素和水平表			
水平	场强/ $\text{kv} \cdot \text{cm}^{-1}$	因素 时间/s	种子干湿
1	2	60	干
2	4	180	湿
3	6		
4	8		
5	10		
6	12		

表 2 高压脉冲电场对番茄陈种子发芽指标的影响								
试验号	场强/ $\text{kv} \cdot \text{cm}^{-1}$	时间/s	含水量	发芽势/ %	发芽率/ %	发芽指数	活力指数	Y
1	4.00	60	干	61.00	79.00	9.38	6.00	150.12
2	10.00	60	湿	65.00	84.00	10.04	6.83	160.26
3	10.00	180	干	63.00	80.00	9.53	0.00	147.22
4	4.00	180	湿	68.00	82.00	10.33	7.54	162.13
5	8.00	60	干	65.00	88.00	10.42	6.77	164.49
6	2.00	60	湿	59.00	81.00	9.28	5.57	149.66
7	2.00	180	干	54.00	78.00	8.99	5.21	141.36
8	8.00	180	湿	76.00	93.00	12.14	8.98	183.65
9	6.00	60	干	64.00	85.00	11.19	7.39	161.96
10	12.00	60	湿	58.00	80.00	9.49	6.17	148.53
11	12.00	180	干	53.00	77.00	9.19	5.70	140.10
12	6.00	180	湿	72.00	92.00	12.04	8.55	178.36
陈种子对照				41.00	75.00	7.88	4.33	124.17
显著水平	0.00073	0.085	0.00058					
主次因素	含水量>	场强>	时间					
优组合	处理 8							

表 3 高压脉冲电场对番茄陈种子萌发时酶活性的影响							
试验号	场强/ $\text{kv} \cdot \text{cm}^{-1}$	时间/s	含水量	过氧化氢酶/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	过氧化物酶/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	超氧化物歧化酶/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$	Z
1	4.00	60	干	16.90	32	42.50	63.32
2	10.00	60	湿	24.84	40	51.50	80.30
3	10.00	180	干	20.20	26	44.30	61.52
4	4.00	180	湿	23.50	38	51.30	77.75
5	8.00	60	干	21.82	35	49.20	72.96
6	2.00	60	湿	18.46	35	42.30	66.57
7	2.00	180	干	14.30	15	32.20	41.30
8	8.00	180	湿	28.90	44	67.41	96.15
9	6.00	60	干	23.50	30	51.10	71.08
10	12.00	60	湿	20.01	42	42.21	73.14
11	12.00	180	干	18.52	32	35.50	59.80
12	6.00	180	湿	26.35	41	65.40	92.66
陈种子对照				8.20	11	25.12	29.90
显著水平	0.014	0.61	0.0015				
主次因素	含水量>	场强>	时间				
优组合	处理 12						

2 结果与分析

2.1 高压脉冲电场对番茄陈种子发芽指标的影响

从表 2 可以看出，经过脉冲电场处理以后的番茄陈种子发芽势(X_1)、发芽率(X_2)、发芽指数(X_3)、活力指数(X_4)均比未经过处理的陈种子高，尤其是发芽势数提高的幅度最明显。高压脉冲电场对湿种子的处理效果要比干种子好。将 4 项发芽指标进行主成分分析，简化为一个综合指标 Y ，公式是： $Y=0.947X_1+979X_2+969X_3+0.987X_4$ (2-1)运用公式 2-1 得出了番茄陈种子萌发的综合评价指标 Y (见表 2)。通过表 2 可以看出：处理 8 (场强是 8 kv/cm ，作用时间是 180 s，作用种子为湿种子)的效果最好，发芽势是 76% (比陈种子对照提高 85.37%)；发芽率是 93% (比陈种子对照提高 17.73%)；发芽指数是 12.14 (比陈种子对照提高 30.82%)；活力指

数是 9.35 (比陈种子对照提高 73.79%)， Y 是 183.65，但是没有超过新种子的各项指标。对正交试验资料进行极差分析，可以得出对种子发芽影响最大的因子是种子的含水量，显著水平是 0.00058；其次是电场强度，显著水平 0.00073；影响最小的因子是作用时间，显著水平是 0.085。

2.2 高压脉冲电场对番茄陈种子萌发期酶的影响

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)是关系植物抗性与保护反应的关键酶，对于清除种子内过多的自由基减轻植物损伤，维持自由基含量的相对稳定具有重要作用^[12]。从表 3 可以看出，经过高压脉冲电场处理以后，陈种子的 CAT (X_1)、POD(X_2)和 SOD(X_3)3 种酶的活性增强。对 3 种抗氧化酶进行主成分分析，简化为一个综合指标 Z ，公式是： $Z=0.589X_1+0.817X_2+0.640X_3$ (2-2)运用公式 2-2 可以得出 Z

(见表3)。通过表3可以看出仍然是以处理8的(场强是6 kv/cm, 作用时间是180 s, 作用种子为湿种子)效果最好, CAT活性为28.90 mg · g⁻¹ · min⁻¹, 是对照3.52倍; POD活性为44 U · g⁻¹ · min⁻¹, 是对照的4倍; SOD活性为67.41 U/g, 是对照的2.68倍。对正交试验资料进行极差分析, 可以得出对种子抗氧化酶影响最大的因子是种子的含水量, 显著水平是0.0015; 其次是电场强度, 显著水平0.014; 影响最小的因子是作用时间, 显著水平是0.61。

3 讨论

高压脉冲电场是一个高强度和短脉冲的综合效应场, 同时具有粒子束和电子辐射作用, 可以提高种子中过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶的活性, 从而促进陈种子的萌发, 提高陈种子的利用率。电场的生物效应是由脉冲电场首先引起生物体内分子的物理的和化学的原发反应, 从而形成一个综合的后系列效应。酶活性的变化是一种调节机制, 高压脉冲电场作用引起细胞内蛋白质、糖、脂质等极性分子和离子的定向排列, 从而引起含金属的酶构象发生变化, 激活酶的活性。细胞内适量的自由基有参与代谢储能、防御、清除毒害物质的作用, 但过量则会导致严重伤害; 逆境也会使细胞的某些代谢失调, 致使产生大量自由基, 打破了自由基代谢平衡而对细胞造成伤害。高压脉冲电场处理的陈番茄种子中的过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶的活性增强, 意味着清除H₂O₂, O₂⁻, HO⁻等自由基的能力增强。这3种抗氧化酶活性同时提高、协同作用, 保护了生物膜及其它生命物质不受自由基的侵害, 也揭示了高压脉冲电场促进膜结构完整、功能完善的另一途径。

种子的干湿情况不同, 高压脉冲电场对种子的作用效果也不一样。试验结果表明对湿种子的作用效果要好于干种子, 这说明种子在浸泡以后, 种子内部各种蛋白质、酶等大分子和细胞器发生水合活化, 高压脉冲电

场再对种子进行作用, 促进了种子内部酶催化反应, 增强了酶的活性, 从而促进了种子的萌发。

4 结论

高压脉冲电场可以提高种子的发芽率、发芽势, 提高种子萌发期间抗氧化酶的活性, 当电场场强是6~8 kv/cm, 时间为180 s时, 作用种子为湿种子高压脉冲电场对种子的作用效果最好, 种子的表观发芽指标和抗氧化酶的活性达到最大值。

参考文献

- [1] 陈大清, 李亚男. 氯化钙和海藻糖浸种对杂交种子老化的保护效应[J]. 华中农业大学学报, 1997, 16(4): 325-327.
- [2] 卢新雄, 崔聪淑, 陈晓玲, 等. 国家种质库部分作物种子生活力监测结果与分析[J]. 植物遗传资源科学, 2001, 2(2): 1-5.
- [3] 洪法水, 魏正贵, 赵贵文. 硝酸镧对水稻老化种子活力影响的作用机制[J]. 中国稀土学报, 2001, 19(1): 75-79.
- [4] OFFICER D L. Effect of multi-enzyme supplements on the growth performance of piglets during pre and post weaning periods[J]. Animal Feed SciTechnol, 1995, 55: 55-65.
- [5] Carstensen E L. Biological effects of power frequency electric fields[J]. Journal of Electrics, 1997, 39: 157-174.
- [6] 白亚乡, 胡玉才. 应用生物超弱发光筛选静电场的最佳处理剂量[J]. 农机化研究, 2002, 9(4): 79-82.
- [7] 于爱真, 蔡兴旺, 李明, 等. 高压静电场分离水稻、油菜及芝麻种子对萌发期生物效应的影响[J]. 农业工程学报, 1995, 11(4): 139-143.
- [8] 吴旭红, 孙为民, 张红燕, 等. 高压静电场对南瓜种子萌发及幼苗生长的生物学效应[J]. 种子, 2004(2): 27-30.
- [9] 吴旭红, 孙为民, 张红燕. 静电场对植物的生物效应[J]. 黑龙江农业科学, 2005(2): 15-20.
- [10] 李晓静, 任安祥. 茄子种子电磁生物效应的研究[J]. 华北农学报, 2007, 22(2): 180-183.
- [11] 张治安, 张美善, 蔚戎海. 过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性的测定[M]//植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.
- [12] 张立勇, 阮燕晔, 张春宇, 等. 种子吸胀萌发期抗氧化酶活性的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(7): 1274-1275.

Effect of High Intensity Pulsed Electric Fields on Germination and Enzyme of Old Tomato Seeds

CHI Yan-ping¹, YIN Yong-guang¹, LI Ting-ting², WANG Yan²

(1. College of Biology and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun, Jilin 130022, China; 2. Department of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: The article used statistical method of orthogonal design and main principal component analysis analyzed the effect of on old tomato seeds during sprouting process of seedling. The results showed that germination percentage, germination energy, germination index and vigor index of old tomato seeds were increased, and enhancements of germination energy were greater. From orthogonal design analysis of variance, we could conclude that the influencing order was that water contents of seeds, strength field and times. Old seeds treated by PEF increased activities of catalase, Peroxidase and Superoxide dismutase. We can conclude from analysis that the best treatment was that old waterish seed treated by high intensity pulsed electric fields of field strength was 8 kv/cm and times was 180 seconds.

Key words: High intensity pulsed electric fields; Old tomato seed; Germination; Activity of enzyme