

PEG 处理对仿栗种子部分生理特性的影响

陆 佳¹, 李志辉¹, 张 斌¹, 李昌珠²

(1. 中南林业科技大学 资源与环境学院 湖南 长沙 410004; 2. 湖南省林业科学院 湖南 长沙 410004)

摘 要: 研究了在不同 PEG 浓度和处理时间下, 仿栗种子 SOD、CAT 活性和 MDA 含量的变化情况。结果表明: PEG 处理能不同程度地提高仿栗种子的 SOD 和 CAT 活性, 且以浓度为 200 g/L 的 PEG 浸种 2 d 的效果最为明显, SOD 活性较对照提高了 83.13%, CAT 活性较之对照上升了 19.34%。不同浓度的 PEG 处理均降低了仿栗种子 MDA 的含量。

关键词: 仿栗种子; PEG; 生理特性

中图分类号: S 330.2; S 727.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)05-0025-03

仿栗 (*Sloanea hemsleyana*) 为杜英科常绿乔木, 分布于我国四川、云南、湖北西部及湖南等地, 生长于山谷溪边土壤潮湿的地方。其树型高大、常绿、枝叶繁茂, 可供观赏。木材白色, 纹理直而细嫩, 可供建筑、家俱等用材。种子可榨油, 可作为一种新的油脂资源加以利用。但目前仿栗大部分处于野生状态, 如果引种到湖区、堤岸、河滩等潮湿土带, 预计是有发展前途的。目前仿栗的研究还处于初级阶段, 主要集中在对其种子含油率方面的研究, 对于仿栗种子生理活性方面还未见报道。

聚乙二醇 (PEG) 渗透调节处理是近年来很有前途的种子预处理技术之一, 作为高分子化合物其本身不能渗入种子活细胞内, 但种子在吸胀过程中能通过渗透调节作用使种子赢得足够的时间来修补膜系统, 从而提高种子活力及抗逆性^[1-3]。一些研究表明, 这种处理对促进种子的萌发, 提高种子的出苗率及整齐度, 特别是对于促进不易萌发种子的出芽, 效果尤其显著。同时, 也能提高种子的抗寒、抗旱及抗盐渍能力。配制一定浓度的 PEG, 造成一定的渗透压, 当种子处在这一水势下, 细胞内的生理生化发生变化, 可以促进 RNA 以及蛋白质的合成、酶的活力提高等, 从而加速萌发前的准备。

PEG 渗透提高种子活力的效果及其生理生化基础的研究已有不少报道^[4-10], 但应用 PEG 渗透提高仿栗种子活力的研究尚未见报道。现对仿栗种子进行 PEG 处理, 对其某些生理特性作了一些研究, 为在实践中和理论中提供一些参考。

1 材料和方法

第一作者简介: 陆佳(1984-), 女, 湖南省南县人, 硕士, 研究方向为森林培育学。E-mail: lujia19842002@126.com。

基金项目: 科技部“十一五”国际合作重点资助项目 (2006DFA63230)。

收稿日期: 2007-12-07

1.1 供试材料

选用国家级森林公园武陵源风景区的仿栗种子为试验材料, PEG (分析纯) 为上海化学试剂厂进口分装。

1.2 试验方法

所用 PEG 6000 浓度分别为 100、150、200 g/L, 浸种处理仿栗种子 1 d、2 d, 以蒸馏水浸种作对照, 处理过程中经常搅动, 以利通气。

1.3 测定指标和方法

测定指标包括 SOD 活性、CAT 活性、MDA 含量, 每个指标重复测 3 次, 取均值。

1.3.1 酶液的制备 按每个处理分别称取仿栗种子 0.2 g, 放入置于冰浴的研钵中, 加入少量 0.05 mol/L pH 7.8 磷酸缓冲液及石英砂, 研磨成匀浆, 将匀浆转入 10 mL 的离心管中, 用磷酸缓冲液定容到 7 mL 在 8 500 r/min 下离心 20 min, 取上清液定容到 10 mL, 即为酶粗提液, 用于测定 SOD、CAT、MDA 活性。

1.3.2 SOD 活性测定 参照 Stewert 和 Bewley^[11] 抑制 NBT 光化还原的方法。反应液总体积 3 mL, 其中含有 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 1.5 mL, 130 mmol/L 甲硫氨酸 0.3 mL, 75 μmol/L 氮兰四唑 0.3 mL, 100 μmol/L EDTA-Na₂ 液 0.3 mL, 20 μmol/L 核黄素 0.3 mL, 蒸馏水 0.25 mL 和酶液 0.05 mL, 在 4000 lx 日光下反应 20 min, 以缓冲液代替酶液作为对照, 在 560 nm 波长下比色。以 SOD 抑制氮兰四唑光还原 50% 时所需酶液量为一个酶活力单位。

1.3.3 CAT 活性测定 参照李柏林和梅慧生^[12] 的方法测定, 以每克鲜样每分钟内分解 H₂O₂ 的毫克数为一个酶活力单位。统一提取酶液 2.5 mL, 对照加煮死酶液 2.5 mL, 再加入 2.5 mL 0.1 mol/L H₂O₂, 同时计时, 于 30℃ 恒温水浴中保温 10 min, 立即加入 10% H₂SO₄ 2.5 mL, 用 0.1 mol/L KMnO₄ 标准溶液滴定, 至出现粉红色 (在 30 min 内不消失) 为终点。酶活性以每克鲜重

样品 1 min 内分解 H_2O_2 的毫克数表示。

1.3.4 MDA 含量的测定 参照 Heath 等^[13] 的硫代巴比妥酸(TBA)比色法。取统一提取酶液 2 mL, 加 0.67% TBA 2 mL, 混合后在 100℃水浴上煮沸 30 min, 冷却后再离心 1 次。分别测定上清液在 450 nm、532 nm 和 600 nm 处的吸光度值, 按公式 $C/\mu\text{mol/L} = 6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}$ 算出 MDA 浓度, 再算出单位鲜量组织中的 MDA 含量($\mu\text{mol/g}$)。

2 结果与分析

2.1 PEG 浸种对 SOD 活性的影响

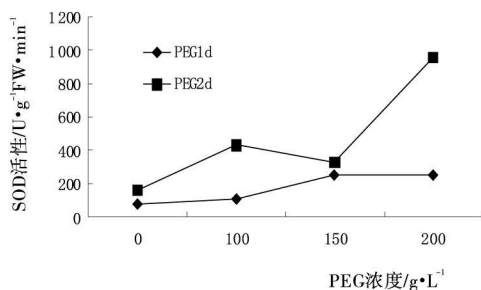


图 1 PEG 处理对仿栗种子 SOD 活性的影响

2.2 PEG 浸种对 CAT 活性的影响

由图 2 可以看出, 经 PEG 处理 2 d, 浓度为 100 g/L 时, CAT 活性与对照相比下降了 10.91%; 浓度为 150 g/L 时, CAT 活性与对照相比上升了 11.69%; 浓度为 200 g/L 时, CAT 活性与对照相比上升了 19.34%。200 g/L PEG 处理种子 2 d, 效果最为明显, 较之对照上升了 19.34%。

2.3 PEG 浸种对 MDA 含量的影响

由图 3 可以看出, 经 PEG 处理后, MDA 含量均呈下降趋势, 随着浓度的增加, 处理 1 d 的 MDA 含量分别为对照的 25.5%、39.85%、19.3%; 处理 2 d 的 MDA 含量随着浓度的增加, 分别为对照的 24.66%、32.96%、29.38%。表明 PEG 处理降低了脂质过氧化反应。

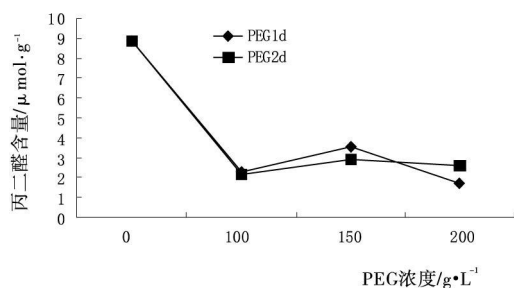


图 3 PEG 处理对仿栗种子 MDA 含量的影响

由图 1 可以看出, 不同浓度的 PEG 处理种子 1 d 和 2 d, SOD 活性均是上升的。100 g/L PEG 处理种子, SOD 活性分别上升了 31.35% (1 d)、62.41% (2 d); 150 g/L PEG 处理种子, SOD 活性分别上升了 68.83% (1 d)、50.57% (2 d)。200 g/L PEG 处理种子, SOD 活性分别上升了 69.75% (1 d)、83.13% (2 d)。PEG 处理 1 d 提高幅度不是很明显, 仅浓度为 150 g/L 时提高幅度比处理 2 d 的高, 200 g/L PEG 处理 2 d 效果最为明显, SOD 活性较对照提高了 83.13%。

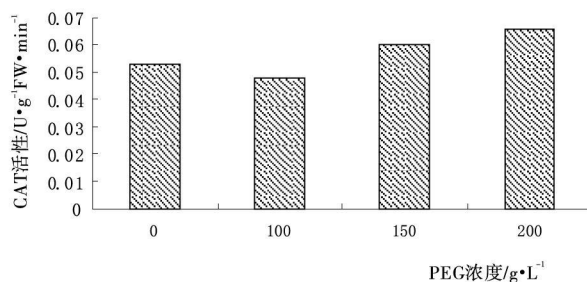


图 2 PEG 处理仿栗种子对 CAT 活性的影响

3 讨论

仿栗种子在贮藏过程中容易发生劣变, 通常生产用种都需当年产种子, 隔年种子活力显著下降, 膜脂过氧化引起膜的破坏可能是主要原因。MDA 是膜脂氧化的最终产物, 已被证明 MDA 的积累来自不饱和脂肪酸的降解, 它是由体内自由基引发而产生的。因此, MDA 的积累在一定程度上反映了体内自由基的活动状态, MDA 积累多, 说明超氧阴离子与羟自由基可能是高水平的。MDA 和一些自由基过多的积累会对植物造成严重的伤害: MDA 具有强交联性质, 能与氨基酸或有游离氨基酸的蛋白质、磷脂酰乙醇胺及核酸结合, 形成具有荧光的 Schiff 碱, 即类脂褐色素, 它是干扰细胞内正常生命活动代谢的不溶性化合物^[14]。PEG 是一种高分子渗透剂, 用其处理的实质是限制水分进入种子的速率, 从而减少了种子吸胀过程中膜系统的损伤, 也有利于膜系统损伤的修复。试验结果表明, 用不同浓度的 PEG 对仿栗种子进行处理, 其 MDA 含量与对照相比, 均有不同程度的降低, 这就更进一步验证了 PEG 处理降低了脂质过氧化反应, 有利于膜系统损伤的修复。

生物有氧代谢过程中产生的氧自由基引起脂质过氧化并导致膜的损伤, 这也被认为是组织衰老和种子劣变的原因之一。SOD 和 CAT 是生物体中清除自由基的主要酶系, 提高 SOD 和 CAT 的活性, 可加速对自由基的清除, 减轻对膜的破坏, 有利于膜的修复。SOD 的主要功能是催化超氧化物阴离子自由基发生歧化反应, 生成

H₂O₂和O₂，从而消除氧自由基对植物的伤害。H₂O₂主要作为氧化剂对植物组织产生毒害作用，它可以产生氧化能力很强的羟自由基和单线态分子氧，过量的H₂O₂积累会对植物细胞造成很大伤害。植物组织中高浓度的H₂O₂主要靠CAT清除，从而使H₂O₂控制在较低的水平^[15]。PEG浸种后都能提高保护酶活性，增强机体清除自由基的能力，从而有效地保护了膜结构的完整性。同时，仿栗种子经PEG浸种后，改变了干燥种子膜磷脂的物理状态，限制水分进入种子的速率，这样就有可能减小种子因快速吸涨造成膜系统的损伤，有利于细胞膜的修复，减少营养物质的渗漏。

结果表明，PEG处理能提高仿栗种子中SOD和CAT的活性，二者在清除自由基的过程中表现出协同作用。其中以浓度为200 g/L的PEG浸种2 d的效果最为明显，SOD活性较对照提高了83.13%，而CAT活性较之对照仅上升了19.34%，整个过程中CAT的活性的变化都较于平缓。原因可以这样解释：CAT既可清除体内过量的H₂O₂，又是脂肪酸β-氧化的参与酶，因而种子内需保持高水平的CAT酶活性以维持自由基代谢平衡。

通过试验，对仿栗种子在PEG逆境下的生理活动有一定的了解，为对仿栗的研究提供了一些最基本的资料。总的来说，用PEG处理主要是控制仿栗种子的吸水速率并对膜脂过氧化有关的酶进行调节，提高保护酶活性，增强细胞清除自由基的能力，并能降低脂质过氧化反映，减轻细胞膜系统受损伤程度，从而保护了膜结构的完整性。

参考文献

[1] 郑光华 张庆昌. 渗透法处理种子能提高种子活力增强抗逆力[J]. 种子, 1985(2): 55-56.
[2] 王飞, 丁勤, 杨峰. PEG 预处理对老化杜梨种子活力的影响[J]. 种子, 1994(4): 20-22.
[3] 郑光华 徐本美 顾增辉. PEG 引发种子效果[J]. 植物学报, 1985, 27(3): 329-333.
[4] 冯文新. 钙浸种对小麦幼苗保护酶活性及膜功能的影响[J]. 麦类作物, 1997, 17(3): 30-33.
[5] 刘杰, 刘公社. 聚乙二醇处理对羊草种子萌发及活性氧代谢的影响[J]. 草业学报, 2002 11(1): 59-63.
[6] 李季平 古红梅. 聚乙二醇(PEG)处理对小麦萌发种子生理生化特性的影响[J]. 河南农业科学, 2002(6): 4-6.
[7] 田桂香 汤绍虎. 干旱胁迫对黄连生理作用的影响[J]. 西南师范大学学报, 2006 31(2): 133-136.
[8] 欧阳西荣 林彰文. 种子处理对玉米幼苗抗低温能力的影响[J]. 种子, 2004, 23(6): 26-29.
[9] 贾永华 王飞. 硫酸和PEG处理对多叶羽扇豆种子萌发和某些生理生化指标的影响[J]. 西北农业学报, 2006 15(3): 104-108.
[10] 黄祥富 蒋明兰 廖军. PEG 渗透对苦瓜种子活力和膜脂过氧化的影响[J]. 种子, 1999(2): 7-8.
[11] Stewert R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. Plant Physiol, 1980 65: 245-248.
[12] 李柏林 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报, 1989, 15(1): 6-12.
[13] Heath R L, Parker L. Photoperitization in isolated chloroplasts kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Arch Biophys, 1968, 25: 189-198.
[14] Bramlage W J, Leopold A C, Parrish D J. Chilling stress to soybeans during imbibition[J]. Plant Physiol, 1978 61: 525-529.
[15] 张燕, 方力. PEG 浸种处理提高烟草种子活力的效应[J]. 种子, 2003(6): 26-28.

Effects of PEG on Some Seed Physiological Characters of *Sloanea Hemsleyana*

LU Jia¹, LI Zhi-hui¹, ZHANG Bin¹, LI Chang-zhu²

(1. Central South University of Forestry and Technology, Changsha Hunan 410004 China; 2. Hunan Academy of Forestry, Changsha, Hunan 410004 China)

Abstract: Under the condition of different density of PEG and different time, the activity of SOD, CAT and the content of MDA in *Sloanea hemsleyana* seeds which was soaked with PEG was studied. The results showed that PEG could increase the activity of SOD and CAT to some extent, and the effect of the treatment with 200 g/L PEG for two days was most significant, that was to say, the activity of SOD increased by 83.13% and the activity of CAT increased by 19.34% compared with the treatment with water. The content of MDA in *Sloanea hemsleyana* seeds was decreased with different density of PEG.

Key words: *Sloanea hemsleyana* seed; PEG; Physiological characters