

萝卜种子超干处理与种子活力及脂质过氧化关系

蒋 燕, 裴会敏, 李改莉

(河南科技大学, 河南 洛阳 471003)

摘 要: 将不同含水量的萝卜种子通过直接吸胀萌发、回水萌发、老化回水等处理, 测定种子发芽率、活力指数、发芽指数, 种子浸出液电导率、丙二醛、过氧化氢酶和过氧化物酶含量等, 研究超干处理与种子活力及脂质过氧化的关系。结果表明: 随种子含水量降低, 种子直接吸胀萌发, 发芽指数和活力指数均不同程度下降; 萌发前回水处理, 发芽指数和活力指数与自然含水量的基本一致; 老化回水处理, 自然含水量种子活力大幅度下降, 超干种子仍保持较高水平; 超干种子活力显著高于对照, 脂质过氧化程度低于对照, 耐贮性显著提高。萝卜种子超干贮藏最适含水量在 3% 左右。

关键词: 萝卜种子; 超干处理; 种子活力; 脂质过氧化

中图分类号: S 631.104⁺.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)06-0045-04

世界上 90% 以上的种质资源以种子形式保存^[1]。低温种子库保存投资大, 常年运转费用高。研究表明^[2], 将种子水分降至 5% 以下的超干贮藏, 常温下可达相近贮藏效果而节约费用。迄今为止, 已对花生、甜菜、油菜、高粱、杜仲、柑桔、芝麻、红花等 30 多种植物进行了超干燥研究^[4,9]。孙爱清^[7] 等进行了超干种子生理和细胞学研究。周洋胜^[8] 等研究表明, 油菜、萝卜、黑芝麻种子适宜超干保存。朱诚^[9] 等研究了花生种子超干贮藏中, 酶系统活性和丙二醛变化。陶梅^[9] 等探索了种子超干脱水的实用方法。

萝卜在世界范围内栽培较广。其籽粒较小, 种皮薄, 种仁厚, 吸湿强, 种间空隙度小, 通气性差, 种子收获季节阴雨天数多, 不宜长期贮藏。萝卜种子超干贮藏方面已有相关报道^[10], 但超干最适含水量和具体操作技术方面还有待深入研究。试验对萝卜种子进行不同含水量处理, 测定活力指标及脂质过氧化指标, 探讨超干处理与种子活力及脂质过氧化的关系, 对种子超干贮藏进行基础研究。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试萝卜(691)种子, 由河南豫艺种业科技发展有限公司提供; 发芽率 97%, 自然含水量为 7.35%。试验于 2008 年 12 月在河南科技大学进行。

1.2 试验方法

硅胶室温干燥法, 分别脱水处理 48、96、144、192 h, 恒温烘干法^[11] 测定种子含水量, 分别为 4.84%、3.57%、2.49%、1.86%, 与自然含水量种子(CK)一起放入 50℃ 恒温箱中老化处理 5、10、15 d 后, 放入饱和 CaCl₂ 溶液的干燥器中, 密封于 20℃ 下 24 h, 转入盛有饱和 NH₄Cl 溶液的干燥器中平衡 24 h, 回水处理(RH)。然后取出, 室温放置 3 d 后, 超干种子含水量与对照基本一致。

回水处理和不回水处理(N-RH)种子各 100 粒, 进行发芽试验。然后精选大小均匀、颗粒饱满的种子, 重复 3 次, 加入 6~7 mL 重蒸水浸泡, 在 25℃ 下分别浸泡 4、8、12、16、20 h, 电导仪测定计算相对电导率。测定过氧化氢酶(CAT)含量^[12]、过氧化物酶含量(POD)^[13]。

2 结果与分析

2.1 超干处理对萝卜种子萌发率和活力的影响

种子活力包括发芽潜力、生长和生产潜力^[14]。超干种子吸胀前回水处理, 进行萌发试验。由表 1 可知 随着种子含水量降低, 无论回水与否, 发芽率保持在 97% 以上。未经回水处理的种子, 随着含水量降低, 发芽指数和活力指数有所降低, 可能是由于吸胀损伤造成的。回水处理可减轻吸胀过程中造成的干燥损伤, 是保证种子活力的关键因子。

2.2 超干种子的抗老化能力

种子经老化回水处理不同时间后, 测定其发芽指标。由表 2 可知, 从 0~15 d 随着老化处理时间延长, 种子发芽率、发芽指数、活力指数都有所降低。说明老化时间越长, 造成种子损伤越厉害, 对种子活力影响越大。

第一作者简介: 蒋燕(1966), 女, 硕士, 副教授, 现从事园艺教学与科研工作。

收稿日期: 2009-12-20

随着种子含水量降低, 老化处理后, 超干种子活力高于对照种子。老化处理 15 d 的对照种子发芽率、发芽指数和活力指数分别为 51.25%、19.41 和 1.21; 超干种子(MC 为 4.84%~1.86%)发芽率保持在 81%以上, 发芽指数、活力指数仍维持在 36.0 和 2.98 以上; 即种子超干可提高其抗老化劣变能力。种子根尖细胞染色体畸变率随种子活力下降而升高, 超干处理能有效抑制染色体变异积累, 推迟发生变异时间¹³。

表 1 不同含水量萝卜种子活力

Table 1 The Turnip seed vigor of different moisture

含水量 Water content/%	处理 Treat	发芽率 Germination percentage/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
7.35	CK	98	41.71	3.87
4.84	RH	97	41.23	3.82
	N-RH	98	38.95	3.61
3.57	RH	98	42.98	3.98
	N-RH	97	39.56	3.47
2.49	RH	97	40.85	3.79
	N-RH	98	36.74	3.23
1.86	RH	97	40.05	3.71
	N-RH	97	34.47	3.01

表 2 老化回水处理不同天数后萝卜种子活力

Table 2 After a number of different water treatment aging turnip seed vigor

含水量 Water content/%	处理天数 Treatment days/d	发芽率 Germination percentage/%	发芽指数 germination index	活力指数 Vigor index
7.35	0	99.00	41.71	3.87
	5	71.00	30.25	1.26
	10	55.00	23.67	1.21
	15	51.25	19.41	1.14
4.84	0	98.00	38.95	3.72
	5	85.00	38.43	3.19
	10	89.00	40.91	3.08
	15	93.00	39.23	3.31
3.57	0	97.00	42.98	3.98
	5	87.00	40.39	3.77
	10	94.00	45.58	3.59
	15	90.00	40.94	3.83
2.49	0	97.00	39.56	3.79
	5	92.00	37.72	3.57
	10	83.00	43.96	3.39
	15	90.00	42.06	3.72
1.86	0	96.00	40.05	3.71
	5	89.00	39.72	3.41
	10	81.00	36.56	3.25
	15	87.00	36.06	2.98

2.3 超干处理对膜系统选择性的影响

种子未经回水处理, 直接浸种测定其电导率。由图 1 可知, 4~20h 内, 各水分种子浸出液电导率呈上升趋势

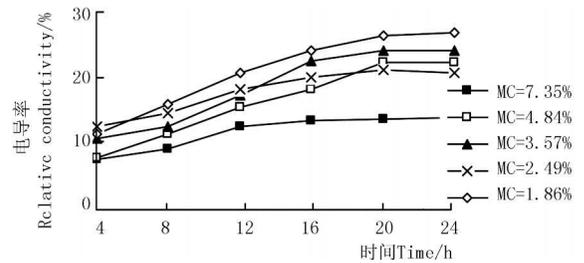


图 1 未经回水处理种子相对电导率变化

Fig. 1 Without backwater treatment electronic conductivity seeds

势。超干种子明显高于对照, 即膜的选择性透性增加。

种子衰老或损伤, 细胞膜中脂蛋白变性, 种子向周围溶液渗漏出较多电解质¹⁴。由图 2 可知, 回水处理后超干种子的相对电导率与对照相近。说明回水处理达到超干种子质膜的物理修补效果, 避免在吸胀过程中种子内物质大量渗漏。

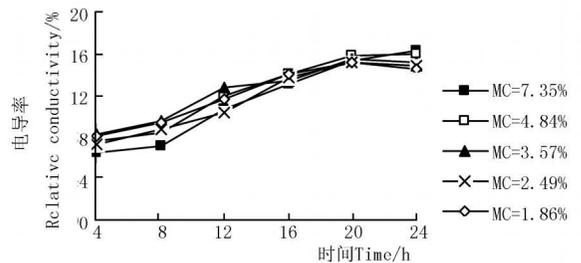


图 2 回水处理后种子相对电导率变化

Fig. 2 Backwater treatment electronic conductivity seeds

由图 3 可知, 老化处理 10 d 的种子, 回水处理后的相对电导率。对照呈上升趋势, 明显高于超干种子, 表明超干处理有利于保持种子细胞膜结构和功能稳定, 防止贮藏物质外渗, 与孟叔春等研究的结论一致¹⁷。

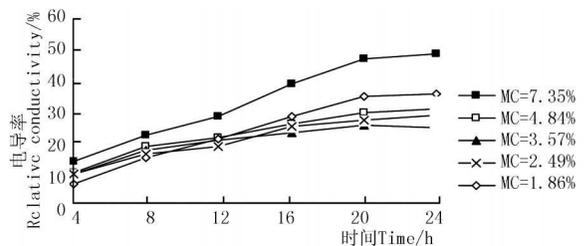


图 3 不同含水量种子老化回水处理后的相对电导率

Fig. 3 Backwater treatment electronic conductivity different water content seeds

2.4 超干种子酶活性的变化

由表 3 可知, 老化处理 10 d 后的超干种子回水处理后, CAT 活性除含水量为 4.84% 的显著高于对照外, 其它均极显著高于对照; POD 活性均极显著高于对照。酶

活性高,为萌发过程中清除细胞内脂质过氧化产生的毒害奠定有利基础,提高种子耐藏性,酶活性与种子活力变化趋势相一致。超干处理可缓解种子老化过程中细胞膜结构的损伤,使种子保持较高活力水平^[18]。含水量为3.57%和2.49%的超干种子耐藏性好。

表3 萝卜种子老化回水处理后不同含水量的酶活性

Table 3 Turnip seed water content with different aging after the enzyme activity

含水量 Sater content/%	过氧化氢酶 CAT ng · (4 min) ⁻¹ · g ⁻¹ FW	过氧化物酶 POD U · g ⁻¹ · min ⁻¹
7.35(CK)	38.17	112.53
4.84	53.34 *	210.71 **
3.57	71.91 **	387.59 **
2.49	78.82 **	372.13 **
1.86	67.13 **	324.75 **

注: *表示在 $\alpha=0.05$ 水平下差异显著 **表示在 $\alpha=0.01$ 水平下差异极显著。

Note: * means significant difference at 0.05 level, ** means significant difference at 0.01 level.

超干处理使细胞内酶活性保持较高的水平,高活力种子具有较高 H^+ -ATP酶活力^[19]。种子老化过程中,膜脂过氧化发生,导致活力迅速下降^[20]。自由基攻击力强,低水分下运动受阻,攻击力减弱^[21]。超干处理后,其细胞内自由基的产生速度和数量低于未超干种子^[22]。种子含水量降至一定程度时,细胞内水分进入玻璃化状态,呼吸代谢降低,脂质过氧化被抑制,而自由基清除系统保持完好;当种子吸水萌发时,自由基清除系统恢复活性,减轻或阻止了脂质过氧化作用,保证种子高活力水平^[23-24]。

2.5 超干种子的脂质过氧化产物

丙二醛(MDA)是脂质氧化的主要产物之一,对膜和细胞中的许多生物功能分子具有很强的破坏作用,并参与破坏生物膜的结构与功能^[25]。

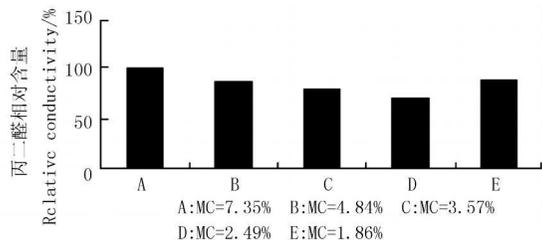


图4 萝卜种子丙二醛相对含量变化

Fig. 4 Turnip seed MDA relative content changes

由图4可知,以对照种子丙二醛为100%,不同含水量的超干种子丙二醛的相对含量从高到低依次为:1.86% > 4.84% > 3.57% > 2.49%。与对照相比,除含水量1.86%外,其它老化的超干种子丙二醛相对含量较

低,表明超干种子脂质过氧化程度较低,种子劣变较轻。

3 讨论

3.1 超干处理对种子活力的影响

萝卜种子超干处理,含水量降至安全含水量(5%)以下,耐藏性提高。超干种子直接吸胀导致种子活力下降,吸胀萌发前回水预处理是保证种子活力不受影响的关键因子。超干种子在老化过程中能保存细胞膜系统的完整性,回水处理可对引起的膜损伤进行修复。超干种子抗老化能力明显高于对照。综合酶活性、脂质过氧化等指标分析,萝卜种子超干含水量以3%较适宜。

种子超干燥贮存后,吸水损伤的机理以及避免吸水损伤的方法(PEG、饱和水蒸气渗透等),有待进一步研究。

3.2 超干处理对生理酶活性的影响

超干种子经老化回水处理,其过氧化氢酶、过氧化物酶活性明显高于未超干种子。表明种子在超干及老化状态下,酶系统并没有被破坏。若种子吸水萌动,酶活性迅速升高,减弱或阻止自由基攻击及脂质过氧化作用的发生,使超干种子表现出良好耐藏性。

3.3 超干处理与脂质氧化的关系

老化过程中超干种子脂质过氧化产物的积累明显低于对照,与芸薹属种子超干处理的研究一致^[26]。说明超干种子能有效减弱或阻止脂质过氧化作用的发生。

4 小结

萝卜种子经超干燥处理,直接吸胀萌发,发芽指数和活力指数均有所下降;吸胀前回水处理,其活力基本与对照一致。老化回水处理,对照种子活力大幅度下降,超干种子活力仍保持较高水平。老化回水处理的超干种子,外渗液电导率明显低于对照种子;过氧化氢酶、过氧化物酶的活性均显著高于对照;丙二醛含量明显低于对照。超干处理能显著提高种子的抗老化劣变能力。综合分析活力、电导率、POD、SOD的变化可知,萝卜超干种子有较好的耐藏性,超干贮藏的最适含水量在3%左右为好。

萝卜种子的超干处理中引起的干燥损伤、自由基清除系统及脂质氧化的机理、遗传稳定性等方面还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 胡小荣,陶梅.种子超干燥研究综述[J].现代农业科技 2006(11): 85-86.
- [2] 胡晋.种子贮藏加工[M].北京:中国农业大学出版社,2001:110.
- [3] 郑光华.控制柑桔种子生命力的研究[J].中国农业科学,1980(2): 78-79.
- [4] Zheng G H, Jing X M, Tao K L. Ultradry. Seed storage cuta cost of gene bank [J]. Naturs. 1998 39(2): 223-224.

- [5] 胡家恕, 朱诚, 曾广文, 等. 超干红花种子抗老化作用及机理[J]. 植物生理学报, 1999, 25(2): 171-177.
- [6] Eills R H, Hong T D Roberts E H. Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of peaseeds to imbibition damage [J]. Seed sci & Technol, 1989, 18: 131-137.
- [7] 孙爱清, 高荣歧, 尹燕秤. 种子超干燥研究进展[J]. 山东农业大学学报, 2000, 31(3): 325-329.
- [8] 周详胜, 毕辛华. 超低水分贮藏对几种高油分种子生活力的影响[J]. 种子, 1993(4): 13-19.
- [9] 朱诚, 曾广文, 郑光华. 超干花生耐藏性与脂质过氧化作用[J]. 作物学报, 2000, 26(2): 235-238.
- [10] 陶梅, 辛萍萍, 张云兰. 实用种子超干燥和超干种子密封方法的探索[J]. 种子科技, 1997(3): 29-31.
- [11] 国际种子检验协会编. 国际种子检验规程[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 29-30.
- [12] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 167-168.
- [13] 赵世杰, 史国安, 董国安主编. 植物生理学实验指导[M]. 中国农业科学技术出版社, 2002: 142-144.
- [14] 颜启传, 胡伟民, 宋文坚. 种子活力测定的原理和方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 2-5.
- [15] 程红炎, 郑光华, 景新明. 超干处理提高榆树种子耐藏性[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(5): 340-342.
- [16] 喻方圆, 刘远. 聚乙二醇渗透对马尾松种子活力的影响[J]. 南京林业大学学报, 2000, 24(1): 38-40.
- [17] 孟叔春, 张海英, 刘虎沅, 等. 20℃下三种蔬菜种子常年贮存后生理特性和遗传稳定性的研究[J]. 华北农学报, 2003, 18(4): 26-30.
- [18] 高平平, 乔燕萍, 周国平, 等. 超干处理对高粱、玉米种子活力的影响[J]. 作物品种资源, 1998, 65(3): 41-44.
- [19] 汪晓峰, 景新明, 林坚. 超干贮藏榆树种子萌发过程中 ATP 和可溶性糖含量的变化[J]. 植物生理学报, 2001, 27(5): 413-418.
- [20] McDonal M B. Seed deterioration; Physiology, repair and assessment. Seedsci & Teach, 1999, 27: 177-237.
- [21] Priestley D A, Wetner B G, Leopold A C. Organic free radical levels in seeds and pollen. The effect of hydration and aging[J]. Plant physiol, 1985, 64: 88-94.
- [22] 张明方, 朱诚, 胡家恕, 等. 洋葱种子种质超干保存的效果及其对膜系统的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1999, 25(3): 255-259.
- [23] Wendell Q S, Leopold A C. Gloss state and seeds storage stability[J]. Availability equation analysis. Ann Bot, 1994, 74: 601-604.
- [24] Koster K L. Glass formation and desiccation tolerance in seeds[J]. Plant Physiol, 1991, 96: 302-304.
- [25] 郑义新, 戴俊英, 林艳. 水分胁迫下植物叶片光合的气孔和非气孔限制[J]. 植物学通讯, 1995(4): 293-297.
- [26] 程红炎, 郑光华, 陶嘉岭. 超干处理对几种芸苔属植物种子生理生化和细胞超微结构的效应[J]. 植物生理学报, 1991, 17(3): 273-284.

Radish Seeds with the Ultradry Seed Vigor and Lipid Peroxidation in Relations

JIANG Yan, PEI Hui-min, LI Gai-li

(Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

Abstract: The trial of radish seeds of material evaluated the relationship of the dry seed vigor and lipid oxidation at room temperature silica drying their moisture content(MC) from 7.35% to 4.84%, 3.57%, 2.49% and 1.86%, by measuring levels of various seed vigor indicators, germination rate, vigor index, germination index, lipid peroxidation indicators conductivity, catalase content, peroxidase content and MDA. The results showed that Ultradry seeds (MC=4.84% ~ 1.86%) direct imbibition germination index and vitality index had declined; imbibed before giving back its vitality basic treatment and control(MC=7.35%) were unanimous. It was to ensure the vitality of seeds key factor that the appropriate treatment could reduce the imbibition process of the injury. After aging treatment, control of seed vigor had decreased considerably and ultradry seed vigor remained unchanged. Ultradry could significantly improved the seed aging-resistance capability. In addition, the aging water treatment to ultradry seeds of the external fluid conductivity was significantly lower than the control seeds; Lipid peroxidation product malondialdehyde content was significantly higher than the control. Note ultradry aging seed membrane to maintain the physiological function of a more comprehensive and enzyme system remained intact, It collaborated with non-enzymatic reactions common scavenging free radicals such as poison substances, or to prevent a weakening of lipid peroxidation happening, make ultra-dry seed showed good storability. Therefore, the use of ultradry tumip germplasm storage technology was feasible.

Key words: radish seeds; ultradry; seed vigor; lipid peroxidation