

# 芍药种子萌发过程中抗氧化酶活性变化规律的研究

孙晓梅,王思思,杨宏光,李兆坤

(沈阳农业大学 林学院,辽宁 沈阳 110161)

**摘要:**以芍药种子为试材,测定其萌发过程中抗氧化酶活性的动态变化,分析探究芍药种子萌发过程中抗氧化酶活性变化规律。结果表明:超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化物酶(POD)活性与种子萌发呈负相关,过氧化氢酶(CAT)活性与萌发呈正相关且处于缓慢上升状态。在吸胀 12 h 左右时芍药种子开始萌发,且 SOD 活性较 POD 活性、CAT 活性更早发挥作用。

**关键词:**芍药;种子萌发;SOD 活性;POD 活性;CAT 活性

**中图分类号:**S 682.1<sup>+</sup>2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0053-03

芍药(*Paeonia lactiflora*)属芍药科芍药属多年生草本植物,适应性强,抗寒性较强。芍药不但有极高的观赏价值,还有重要的药用价值,在我国栽培历史达 3 900 年<sup>[1]</sup>。种子繁殖是芍药最常见的繁殖方式之一。较其它方式相比,芍药实生苗不但具有一定的变异性,同时还具有根系较发达、抗逆性强等特点,因此芍药多以播种来培育实生苗进行繁殖<sup>[2]</sup>。由于芍药独特的上下胚轴双重休眠特性<sup>[3]</sup>,芍药种子萌发具有一定的难度,萌发率也较低。在自然条件下芍药从播种到出苗需要 6~7 个月,给芍药的人工栽培生产和种子检验带来很大困难<sup>[4]</sup>,因此探究芍药种子萌发具有重大意义。由于导致种子休眠的原因很多,并且这些原因一般不是单一发生作用的,而是互相作用,共同控制着种子的休眠<sup>[5]</sup>。种子萌发的研究比较复杂,其生理过程与代谢、细胞和分子活动密切相关,现通过对芍药种子萌发各阶段抗氧化酶活性动态变化的研究,以期为进一步探究芍药种子休眠机理提供依据,为芍药在分子水平的研究提供生理基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试芍药种子为 2013 年 9 月由甘肃牡丹园艺公司提供,种子的净度为 94.3%,千粒重 151.26 g,含水量 35.94%。

**第一作者简介:**孙晓梅(1970-),女,辽宁沈阳人,博士,教授,现主要从事园林植物种质资源与育种等研究工作。E-mail: xiaomei7280@126.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31240028,31470696)。

**收稿日期:**2015-01-26

### 1.2 试验方法

1.2.1 种子预处理 选取均匀饱满的种子进行处理。用洗衣粉清洗,流水冲洗干净。经 0.5%的高锰酸钾溶液对芍药种子进行 40 min 消毒处理后蒸馏水冲洗干净。

1.2.2 吸胀处理 在 45℃的恒温箱中对预处理过的芍药种子进行吸胀试验,每 6 h 取材 1 次,共吸胀 48 h。

1.2.3 沙藏处理 将吸胀后的种子在 15℃的条件下进行沙藏。待生根 3~4 cm 时(沙藏 28 d),放置于 4℃条件下催芽处理。每 7 d 取材 1 次。

### 1.3 项目测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用邻苯三酚自氧化法,以在每毫升反应液中,每分钟抑制邻苯三酚自氧化率达 50%的酶量定义为 1 个酶活力单位(U)。过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法,在反应液中加入酶液后,每隔 30 s 读数 1 次,共记录 3 min。以每分钟内 A<sub>470</sub>变化 0.01 为 1 个酶活力单位(U)。过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外分光光度计法,以 1 min 内 A<sub>240</sub>减少 0.1 的酶量为 1 个活力单位(U)。

### 1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 和 SPSS 17.0 软件进行整理与分析,3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 种子萌发过程中超氧化物歧化酶(SOD)活性的动态变化

从图 1 和图 2 可以看出,超氧化物歧化酶(SOD)活性的动态变化特点与芍药种子的萌发呈负相关,在种子吸胀 6 h 时最大 211.47 U/mg,活性差异显著。随着代

谢活动的增强,SOD 活性的变化整体呈下降趋势,但在种子露白、生根 3~4 cm、发芽阶段即沙藏的第 21、49、70 天,因为种子呼吸作用增强,SOD 活性也逐渐增强,因此出现小幅度上升趋势。

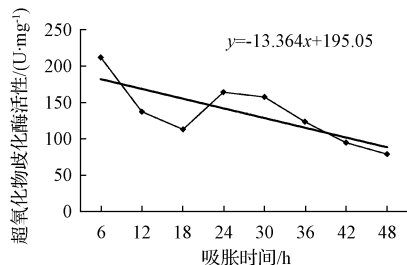


图 1 种子吸胀过程 SOD 活性的变化

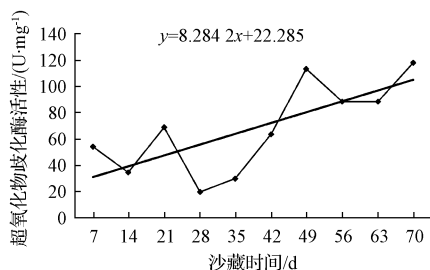


图 2 种子沙藏过程 SOD 活性的变化

## 2.2 种子萌发过程中过氧化物酶(POD)活性的动态变化

从图 3 和图 4 可以看出,过氧化物酶(POD)活性的动态变化特点与芍药种子的萌发呈负相关,在种子吸胀 12 h 时种子 POD 活性为最大值  $19.3 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  FW,活性差异显著。随着代谢活动的增强,POD 活性的变化整体呈下降趋势,在种子生根和发芽阶段即沙藏的第 42 天和第 70 天,由于呼吸强度的增强,POD 活性也逐渐增强,因此出现小幅度上升趋势。

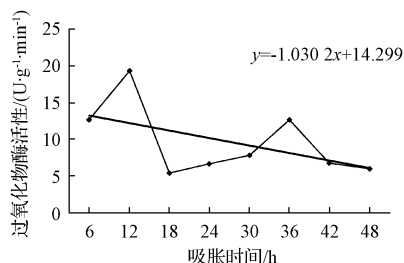


图 3 种子吸胀过程 POD 活性的变化

## 2.3 种子萌发过程中过氧化氢酶(CAT)活性的动态变化

由图 5 和图 6 可知,过氧化氢酶(CAT)活性的动态变化特点与芍药种子的萌发呈正相关。随着代谢活动的增强,CAT 活性的变化一直处于缓慢上升趋势。在沙

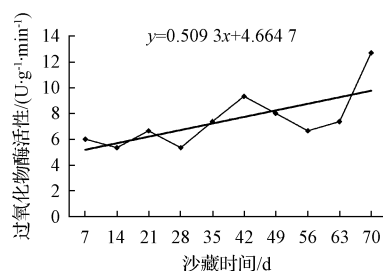


图 4 种子沙藏过程 POD 活性的变化

藏 42 d 时,CAT 活性较大幅度上升。在种子发芽时期即沙藏 70 d,CAT 活性最大  $9.57 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,活性差异显著。

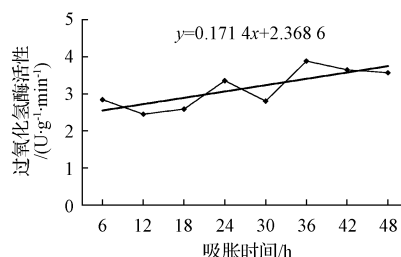


图 5 种子吸胀过程 CAT 活性的变化

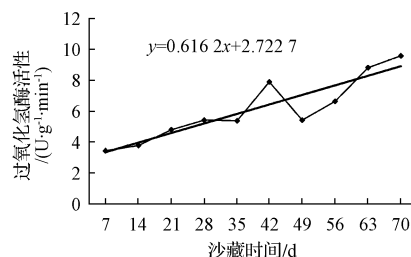


图 6 种子沙藏过程 CAT 活性的变化

## 3 结论与讨论

种子萌发的生理过程与代谢、细胞和分子活动密切相关,种子贮藏、吸胀和萌发阶段往往伴随着活性氧的产生和积累<sup>[6-7]</sup>,活性氧的产生与植物发育过程中自由基的产生和植物本身与环境的相互作用密切相关<sup>[8]</sup>。抗氧化酶系统是植物体内重要的活性氧清除系统,SOD 可以催化超氧化物自由基( $\text{O}_2^-$ )和氢离子反应形成过氧化氢和分子氧,POD 和 CAT 可清除有害  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,保证植物种子萌发过程中生理代谢顺利进行<sup>[9]</sup>。因此可以得出芍药种子萌发与抗氧化酶有密切的关系。该研究表明,SOD、POD 活性的动态变化特点与芍药种子萌发呈负相关,CAT 活性的动态变化特点与芍药种子的萌发呈正相关。

MCCORD 等<sup>[10]</sup>首次揭示了 SOD 的作用。SOD 在活性氧清除反应过程中,第一个发生反应,能将超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^-$ )快速歧化为过氧化氢和分子氧。并且

其在随后的反应中,与过氧化物酶(CAT)、各种过氧化物酶(如 POD)和坏血酸、谷胱甘肽循环系统等共同作用,使  $H_2O_2$  转变为水分和分子氧。SOD 在保护细胞免受氧化损伤、清除氧自由基、防止氧自由基破坏细胞组成、结构和功能方面,有十分重要的作用<sup>[11]</sup>。根据该研究可以看出,SOD 活性在吸胀 6 h 时达到活性最大值,较 POD 活性和 CAT 活性提前,进一步证明 SOD 发挥作用较 POD 活性和 CAT 活性早。

该研究同时指出,芍药种子开始萌发的时间在吸胀 12 h 左右。氧化途径学说认为,种子萌发不仅受到呼吸途径中的糖酵解-三羧酸循环(EMP-TCA)途径平衡调节,而且还受到 PPP 途径的共同调节作用。种子在休眠过程中主要以 EMP-TCA 途径进行呼吸代谢,而种子萌发必须在 PPP 途径逐渐增强并达到一定程度时才能启动。休眠种子逐渐萌发的标志是 PPP 途径的启动。而 POD 影响 PPP 途径,促使种子由休眠状态向 PPP 途径启动状态转化,促进休眠种子的萌发<sup>[12-13]</sup>。种子的萌发是从吸水开始的<sup>[14]</sup>,POD 在吸胀 12 h 的活性最大,为种子萌发提供条件。可进一步研究呼吸途径生理活动的变化,有助于了解种子的休眠与萌发机理,进而找出更好的解除种子休眠的方法。

CAT 在消除  $H_2O_2$  和其它自由基的代谢方面起着重要作用,常作为种子新陈代谢的标识<sup>[15]</sup>。一般过氧化氢酶活性高的种子,其体内过氧化氢积累较少,生活力较高。因此在该研究中,随着种子萌发的进行,CAT 活性不断升高。

## 参考文献

- [1] 杨洋. 芍药种子萌发的生物学特性及破眠技术的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.
- [2] 刘心民,程逸远,张霁,等. 牡丹种子萌发特性与播种繁殖技术研究进展[J]. 河南林业科技, 2005, 25(4): 38-41.
- [3] 宋春花,康晓飞,郭先锋,等. 不同处理对芍药种子发芽的影响[J]. 林业实用技术, 2010(2): 49-50.
- [4] 孙晓梅,杨盼盼,杨宏光,等. 芍药种子破除休眠方法研究[J]. 辽宁农业科学, 2013(4): 20-22.
- [5] 陈彩霞,王九龄,智信. 国内外红松种子休眠及催芽问题研究动态[J]. 世界林业研究, 1997, 10(5): 3-9.
- [6] BOGDANOVIC J, RADOTIC K, MITROVIC A. Changes in activities of antioxidant enzymes during *Chenopodium murale* seed germination[J]. Biologia Plantarum, 2008, 52(2): 396-400.
- [7] 伍贤进,宋松泉,田向荣. 玉米种子吸胀萌发过程中抗氧化酶活性的变化[J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(1): 6-9.
- [8] 覃柳燕,唐美琼,梁莹,等. 不同温度贮藏后山豆根种子酶活性与发芽率相关性研究[J]. 种子, 2011, 30(11): 8-10.
- [9] DUCIC T, LIRIC-RAJLIC I, MITROVIC A, et al. Activities of antioxidant systems during germination of *Chenopodium rubrum* seeds[J]. Biologia Plantarum, 2003, 47(4): 2115-2121.
- [10] MCCORD J M, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein)[J]. Journal of Biological Chemistry, 1969, 244: 6049-6055.
- [11] 叶常丰,戴心维. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [12] 赵永华,杨世林. 西洋参种子休眠解除与磷酸戊糖途径关系的研究[J]. 中草药, 2001, 32(3): 259-261.
- [13] 王艳华,高述民,李凤兰,等. 大山樱种子休眠机理的探讨[J]. 种子, 2005, 24(5): 12-16.
- [14] 纪瑛,胡虹文. 种子生物学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 97.
- [15] 张圆,王普昶,王慧慧,等. 刺槐种子萌发过程中的水分与抗氧化酶活性变化[J]. 种子, 2014(9): 33.

## Antioxidant Enzymes Activity of *Paeonia lactiflora* During Seed Germination

SUN Xiaomei, WANG Sisi, YANG Hongguang, LI Zhaokun

(College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161)

**Abstract:** Using the herbaceous *Paeonia lactiflora* seeds as the test materials, the dynamic changes of the activity of antioxidant enzymes in the process of its germination were determined, the relationship between the *Paeonia lactiflora* seeds germination process and the activity of antioxidant enzymes were analyzed and explored. The results showed that superoxide dismutase (SOD) activity and peroxidase (POD) activity were negatively correlated with seed germination, catalase (CAT) activity and germination were positively correlated and in the rising state slowly. *Paeonia lactiflora* seed began to germinate in about 12 hours' imbibition, and SOD worked earlier than POD and CAT.

**Keywords:** *Paeonia lactiflora*; seed germination; SOD activity; POD activity; CAT activity