

doi:10.11937/bfyy.20170692

不同引发方式对老化南瓜种子萌发及 幼苗生理特性的影响

靳晓青^{1,2,3}, 甄爱^{1,2,3}, 胡晓辉^{1,2,3}(1. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 农业部西北设施园艺工程重点实验室, 陕西 杨凌 712100;
3. 陕西省设施农业工程中心, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以老化南瓜种子为试材, 设置 CaCl_2 、 GA_3 、PEG 6000 3 种引发剂的不同浓度、不同引发时间和不同引发温度处理, 以 H_2O 为对照, 研究不同引发方式对老化南瓜种子萌发和幼苗生理特性的影响。结果表明: 与对照(CK)相比, 在 8°C 低温引发条件下, 对老化南瓜种子进行 1.0% CaCl_2 处理 8 h 引发效果最佳, 种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数分别提高了 20%、22%、18%、66%, 且南瓜幼苗叶片中超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性显著增强, 丙二醛(MDA)含量显著降低, 幼苗长势最好, 表明该引发方式不仅能够有效促进老化南瓜种子萌发, 而且能够增强幼苗抗氧化能力, 从而减轻种子老化衰变对幼苗生理状态的影响。

关键词:老化南瓜种子; 种子引发; 萌发; 生理特性

中图分类号:S 642.104⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)16-0007-06

南瓜(*Cucurbita moschata* Duchesne)是黄瓜、西瓜、甜瓜等瓜类作物嫁接栽培的主要砧木之一, 在设施蔬菜生产中占有重要地位。生产中, 尤其是在反季节嫁接育苗时, 经常会使用储藏过一段时间的砧木种子, 但储存时间过长、保存方式不当等原因常常导致种子不可避免地会出现发芽率低、发芽整齐度差且发芽速度慢等劣变现象, 给农业生产带来巨大损失。

种子引发是一项控制种子缓慢吸水, 逐步回干, 为萌发提前进行生理准备的播前种子处理技术^[1-2]。研究表明, 引发能够提高细胞抗氧化系统的活力, 增强抗氧化酶的活性, 减轻导致种子劣变的脂质过氧化作用, 从而提高种子活力, 促进种子萌发和增强幼苗抗逆能力^[3-4]。目前, 已有不少关于引发处理促进种子萌发的研究^[5-7], 但关于老化南瓜种子引发的相关研究鲜见报道。另外, 引发效果受引发时间、引发温度、引发方式等多种因素的影响, 虽然很多引发剂都有促进种子萌发的作用, 但效果不一, 且不同的引发剂需要在适宜的引发温度和引发时间下才能发挥最佳的引发效果。为此, 该试验以老化南瓜种子为试材, 研究了不同的引发剂类型、引发时间和引发温度对老化南瓜种子的引发效果, 以期筛选出适宜的引发方式。为生产上应用引发技术解决种子储存造成种子活力下降、发芽率低等问题提供更多的参考依据。

第一作者简介:靳晓青(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向为设施瓜菜抗逆境生理。E-mail: jxql163@163.com

责任作者:甄爱(1986-), 女, 博士, 讲师, 现主要从事设施瓜类蔬菜作物栽培与嫁接耐逆境等研究工作。E-mail: zhenai5263344@163.com

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资助项目(CARS-25); 西北农林科技大学博士科研启动基金资助项目(Z109021104); 陕西省农业创新与攻关资助项目(2017NY-049)。

收稿日期:2017-04-06

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为内蒙古呼和浩特市和林县良种站提供的贮藏5年的自然老化南瓜种子。

1.2 试验方法

1.2.1 最适引发时间的确定

试验采用 CaCl_2 、 GA_3 和 PEG 6000 3种引发剂对老化南瓜种子进行引发处理,引发温度为 $16\text{ }^\circ\text{C}$,引发时间分别为 8、24、32 h。 CaCl_2 处理浓度设为 1.0%、1.5%、2.0%; GA_3 处理浓度设为 20、40、60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;PEG 6000 处理浓度设为 15%、20%、25%。对照用蒸馏水代替,每处理 3次重复,每重复 50粒种子。种子引发处理用清水冲洗 2次,滤纸吸干表面水分,转入 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 人工气候箱内,在黑暗环境下进行发芽试验。每天记录发芽数,第 4天统计发芽势,第 7天统计发芽率,分析确定最佳的引发剂浓度和引发时间。

1.2.2 最适引发温度的确定

根据试验 1.2.1 结果设定引发剂处理浓度及其引发时间,并设置 8、16、 $24\text{ }^\circ\text{C}$ 3个引发温度处理。对照用蒸馏水代替,每处理 3次重复,每重复 50粒种子。种子引发处理后的发芽试验及数据采集参照 1.2.1。分析确定出最适引发温度。

1.2.3 种子引发对幼苗生长和生理特性的影响

将试验 1.2.2 筛选出的最适引发温度处理下的萌发种子播种于 50孔育苗基质穴盘中进行幼苗培养,基质配方为草炭:珍珠岩:蛭石为 2:1:1。待幼苗长至两叶一心时采样。鲜样用于测定株高、茎粗、叶面积、鲜质量和干质量,采叶片液氮速冻置于超低温冰箱用于生理指标的测定。每处理 3次重复。幼苗形态指标,每个重复随机取 10株幼苗。

1.3 项目测定

1.3.1 种子发芽特性

种子发芽势(G_e ,%)=第 4天发芽的种子数/供试种子数 $\times 100$;种子发芽率(G_r ,%)=第 7天发芽的种子数/供试种子数 $\times 100$;发芽指数(G_I)= $\sum(G_t/D_t)$;活力指数(V_I)= $G_I\times S$;其中 D_t 为发芽天数; G_t 为与 D_t 相对应的种子的发芽

数; S 为芽苗高度。

1.3.2 生长指标测定

随机取鲜样全株,每重复取 2株,用去离子水洗根,用吸水纸吸干水分,用直尺测量株高,游标卡尺测定茎粗,用叶面积仪测定叶面积。用电子分析天平分别测定地上部与地下部鲜质量,然后放入烘箱以 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 杀青 15 min, $70\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒重,用电子分析天平分别测定干质量。

1.3.3 渗透调节物质含量的测定

可溶性蛋白质含量采用考马斯 G-250 染色法测定,在 595 nm 波长下比色;可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,620 nm 波长下比色,参照李合生^[8]的方法。脯氨酸含量采用酸性茚三酮显色法测定,参照高俊凤^[9]的方法。

1.3.4 丙二醛含量与抗氧化保护酶活性的测定

丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定,在 450、532、600 nm 处测定吸光度值。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定,均参照李合生^[8]的方法。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2010 软件作图和计算,采用 SAS 8.1 软件的 ANOVA 过程进行方差分析,并对平均数进行 Duncan 法多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同引发剂处理时间和浓度对老化南瓜种子萌发的影响

由表 1 可知,不同引发剂处理时间和浓度的引发对老化南瓜种子的发芽率、发芽势和发芽指数均会产生显著影响,其中 1% CaCl_2 与 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 引发 8 h 处理较佳,其发芽势均达到了 77%,比对照(蒸馏水处理 8 h)提高了 15%;其发芽率分别达到了 78%和 77%,比对照(蒸馏水处理 8 h)分别提高了 13%和 12%;其发芽指数分别比对照提高了 31%和 50%。

方差分析结果显示,引发时间(a)、引发剂浓度(b)以及二者之间的互作(a \times b)对种子发芽势和发芽指数均有极显著的影响,对发芽率有显著影响。

表 1 不同引发剂处理时间和浓度对种子萌发的影响

Table 1 Effect of different initiator treatment time and concentration on seed germination

处理时间 Treatment time/h	引发剂处理 Initiator treatment	发芽势 Germination energy/%	发芽率 Germination rate/%	发芽指数 Germination index
8	CK	67±1.79	69±1.79	26.39±5.29
	1.0% CaCl ₂	77±1.76	78±1.75	34.61±6.78
	1.5% CaCl ₂	72±1.78	73±1.74	30.94±5.07
	2.0% CaCl ₂	71±1.78	76±1.75	25.44±4.79
	20 mg·L ⁻¹ GA ₃	77±1.81	77±1.81	39.69±5.71
	40 mg·L ⁻¹ GA ₃	65±1.76	70±1.77	30.97±2.82
	60 mg·L ⁻¹ GA ₃	59±1.76	61±1.77	29.31±2.95
	15% PEG	53±1.78	59±1.79	18.28±4.81
	20% PEG	69±1.77	72±1.78	26.92±3.40
	25% PEG	75±1.78	77±1.80	27.97±4.36
24	CK	57±1.89	60±1.87	22.64±8.98
	1.0% CaCl ₂	66±1.84	73±1.82	29.17±6.73
	1.5% CaCl ₂	63±1.81	69±1.79	22.22±5.32
	2.0% CaCl ₂	63±1.90	66±1.86	26.19±10.86
	20 mg·L ⁻¹ GA ₃	61±1.77	62±1.78	34.11±3.40
	40 mg·L ⁻¹ GA ₃	67±1.78	69±1.77	37.28±4.94
	60 mg·L ⁻¹ GA ₃	60±1.75	63±1.76	31.22±3.45
	15% PEG	70±1.75	73±1.77	23.19±4.45
	20% PEG	60±1.88	69±1.80	18.06±7.29
	25% PEG	43±1.81	61±1.76	12.33±6.28
32	CK	59±1.78	62±1.75	21.47±4.40
	1.0% CaCl ₂	69±1.80	75±1.74	30.11±3.20
	1.5% CaCl ₂	68±1.82	74±1.75	29.28±5.42
	2.0% CaCl ₂	69±1.76	73±1.76	25.53±3.75
	20 mg·L ⁻¹ GA ₃	64±1.82	65±1.85	34.61±5.06
	40 mg·L ⁻¹ GA ₃	70±1.77	70±1.77	35.56±4.79
	60 mg·L ⁻¹ GA ₃	65±1.81	70±1.80	34.61±3.86
	15% PEG	55±1.81	61±1.85	21.86±4.05
	20% PEG	42±1.85	61±1.84	13.47±5.99
	25% PEG	42±1.78	58±1.82	11.36±3.32
a	时间	***	*	***
b	引发剂浓度	***	**	***
a×b	时间×引发剂浓度	***	*	***

注：* 表示在 0.05 水平差异显著，** 表示在 0.01 水平差异显著，*** 表示 0.001 水平差异显著，ns 表示差异不显著。CK 表示对照。以下同。

Note: * indicates the significant difference at the 0.05 level, ** indicates significant difference at the 0.01 level, *** indicates significant difference at 0.001 level, ns means the difference was not significant, CK indicates control. The same below.

2.2 不同引发剂处理温度对老化南瓜种子萌发的影响

依据 2.1 结果,对确定的引发效果较好的 1.0% CaCl₂ 与 20 mg·L⁻¹ GA₃ 引发 8 h 的处理再进行不同引发温度的试验,对照用蒸馏水替代。由表 2 可以看出,就对照而言,引发温度为 8℃ 时老化南瓜种子的发芽势、发芽率、发芽指数均较高,且 1.0% CaCl₂ 与 20 mg·L⁻¹ GA₃ 2 种引发剂处理也均在处理温度为 8℃ 时,种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数较高。其中 1.0% CaCl₂ 引发处理温度为 8℃ 时种子引发效果最佳,其发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数分别较对照(引发温度 8℃)提高了 20%、22%、18%、66%。

方差分析结果显示,温度对种子萌发特性无显著影响,但引发剂及引发剂与温度的互作对种子发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数均具有显著影响。

2.3 不同引发方式对南瓜幼苗生长及生理特性的影响

2.3.1 不同引发方式对南瓜幼苗生长的影响

依据 2.1 和 2.2 结果,对确定的引发效果较好的 1.0% CaCl₂ 与 20 mg·L⁻¹ GA₃ 引发 8 h,引发温度为 8℃ 的种子进行田间幼苗生长与生理特性研究,对照用蒸馏水替代。由表 3 可以看出,1.0% CaCl₂ 引发方式下南瓜幼苗的田间长势最佳,其株高、茎粗、叶面积、植株地上部鲜质量、地下部鲜质量和干质量均显著高于对照,分别比对照提高了 13%、12%、13%、18%、44% 和 11%。20 mg·L⁻¹ GA₃ 处理与对照相比无显著差异。

2.3.2 不同引发方式对南瓜幼苗叶片渗透调节物质的影响

如图 1 所示,1.0% CaCl₂ 引发方式下南瓜幼苗叶片可溶性糖含量与脯氨酸含量均显著高于对照,与对照相比分别提高了 33% 和 104%。而相同引发条件下 20 mg·L⁻¹ GA₃ 引发处理与对照无显著差异。

2.3.3 不同引发方式对南瓜幼苗叶片抗氧化能力的影响

如图 2 所示,与对照相比,1.0% CaCl₂ 和

表 2 不同引发剂处理温度对种子萌发的影响

Table 2 Effect of different initiator treatment temperature on seed germination

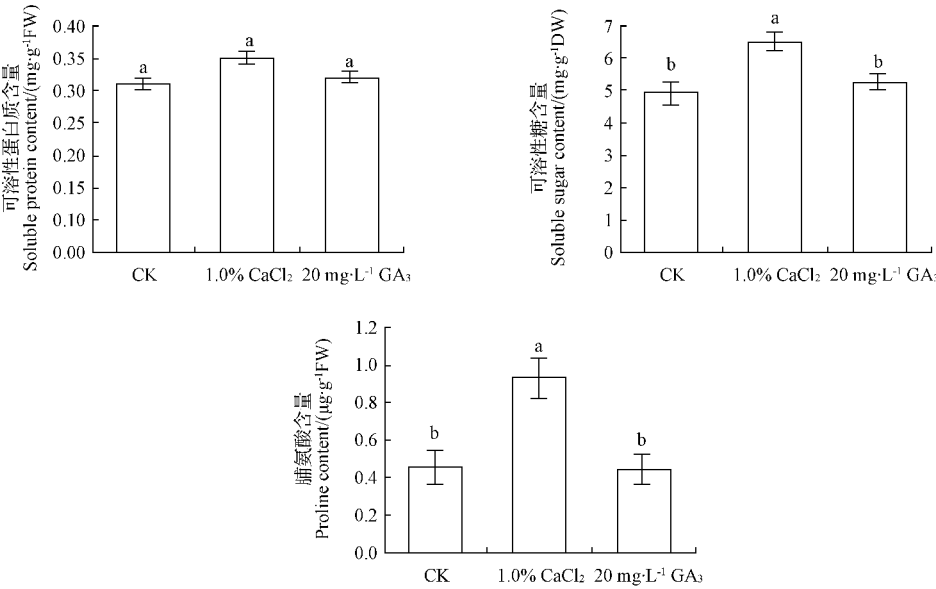
处理温度 Treatment temperature/℃	引发剂处理 Initiator treatment	发芽势 Germination energy/%	发芽率 Germination rate/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
8	CK	66±2.31	69±1.73	29.94±2.92	0.79±0.04
	1.0% CaCl ₂	79±1.37	84±1.15	35.33±0.57	1.31±0.18
	20 mg·L ⁻¹ GA ₃	67±2.40	70±3.46	30.64±1.02	0.88±0.14
16	CK	58±4.62	60±3.46	26.47±3.15	0.91±0.18
	1.0% CaCl ₂	65±1.33	69±1.76	29.50±1.58	1.31±0.11
	20 mg·L ⁻¹ GA ₃	63±6.43	65±6.36	25.31±3.75	0.71±0.11
24	CK	59±2.67	63±1.33	26.42±1.40	0.75±0.05
	1.0% CaCl ₂	62±5.29	68±7.57	27.69±1.81	0.79±0.11
	20 mg·L ⁻¹ GA ₃	60±5.03	62±3.06	26.06±2.25	0.64±0.06
a	温度	ns	ns	ns	ns
b	引发剂	***	***	***	***
a×b	温度×引发剂	***	***	***	*

表 3 不同引发剂处理对南瓜幼苗生长的影响

Table 3 Effects of different initiator treatment on pumpkin seedling growth

处理 Treatment	株高 Plant height /cm	茎粗 Stem diameter /mm	叶面积 Leaf area /mm ²	植株鲜质量 Plant fresh weight/g		植株干质量 Plant dry weight/g	
				地上部	地下部	地上部	地下部
CK	13.18±0.27b	4.64±0.08b	5363±345b	8.17±0.25b	1.24±0.02b	0.83±0.09a	0.09±0.01b
1.0% CaCl ₂	14.89±0.22a	5.19±0.18a	6058±168a	9.60±0.22a	1.78±0.06a	0.81±0.03a	0.10±0.00a
20 mg·L ⁻¹ GA ₃	13.95±0.71ab	4.57±0.11b	5532±172b	8.32±0.12b	1.45±0.13b	0.61±0.02b	0.08±0.00b

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著性(P<0.05)。
Note: Different lowercase letters of same column indicates significant differences among treatments (P<0.05).



注:误差线为标准误,字母为显著性,相同字母无显著性差异,下同。
Note: Error bars indicates SE, letters indicates significance, the same letter is not significant difference, the same as below.

图 1 不同引发剂处理对南瓜幼苗叶片可溶性糖、可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响

Fig. 1 Effects of different priming on contents of soluble sugar, soluble protein and proline in pumpkin seedling leaves

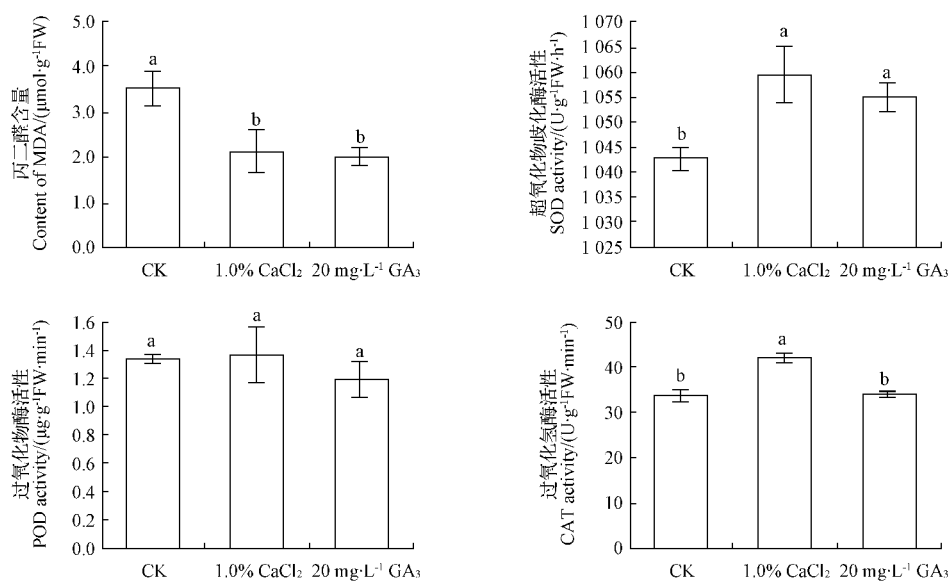


图 2 不同引发剂处理对南瓜幼苗叶片 MDA 含量与 SOD、POD、CAT 活性的影响

Fig. 2 Effects of different priming on MDA content and the activities of SOD, POD and CAT in pumpkin seedling leaves

20 mg · L⁻¹ GA₃ 2 种引发方式均显著降低了南瓜幼苗叶片中 MDA 含量, 分别下降了 39% 和 43%。与对照相比, 1.0% CaCl₂ 引发处理显著提高了南瓜叶片 SOD 活性和 CAT 活性, 尤其是 CAT 活性提高了 27%。

3 讨论与结论

引发时间是影响引发效果最重要的因素之一, 引发时间太短, 种子不能充分吸水, 引发就不能发挥作用, 引发时间太长则可能使种子在引发过程中胚根突破种皮, 或出现发霉现象, 引发效果反而不好^[10]。该试验中, 种子在引发 32 h 后, 种子发霉现象非常严重, 引发 24 h 略有发霉现象, 而引发 8 h 后, 各处理发芽情况较佳, 尤其是 1.0% CaCl₂ 与 20 mg · L⁻¹ GA₃ 引发 8 h 处理下引发效果最佳, 较对照显著提高了老化南瓜种子的发芽势、发芽率及发芽指数, 说明引发时间是种子引发效果的关键因素^[11]。

温度对引发效果也有一定的影响, 一般低温引发效果较好^[12]。但目前采用低温进行种子引发的相关研究鲜有报道, 大多数引发温度都设在

15 ~ 25 °C^[13-15]。该试验结果显示, 对照以及 1.0% CaCl₂ 与 20 mg · L⁻¹ GA₃ 2 种引发剂处理均表现为引发温度为 8 °C 时, 老化南瓜种子的发芽势、发芽率、发芽指数较高, 引发效果较佳, 表明低温引发更有利于促进种子萌发, 这与李明等^[12]研究结果相一致。

种子经过一段时间的储藏后, 体内抗氧化酶活性降低和膜脂过氧化作用加剧是造成其种子活力降低的重要原因^[16]。引发为种子创造了一个温和的环境, 允许种子缓慢吸水, 提供种子充足的时间进行膜系统的修复、物质的合成以及各种代谢活动的复苏, 从而提高种子活力, 促进种子萌发和增强幼苗抗逆能力^[3-4]。该试验得到了相同的结果, 与对照相比, 在引发温度为 8 °C 下, 对老化南瓜种子进行 1.0% CaCl₂ 引发处理 8 h, 种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数显著提高, 同时南瓜幼苗叶片中 SOD 活性和 CAT 活性显著增加, MDA 含量显著降低, 幼苗长势最好, 表明该引发方式不仅能够有效促进老化南瓜种子的萌发, 而且能够通过增强抗氧化系统的作用强度, 从而减少种子老化衰变对幼苗生理状态的影响, 这与徐金金^[17]和徐剑锋等^[7]研究结果一致。

参考文献

- [1] 亢敏,别之龙,周虢,等.不同引发方式对葫芦种子萌发的影响[J].北方园艺,2010(24):18-21.
- [2] 董晶,刘汤秀,张金霞,等.PEG引发对老化小麦种子发芽及生理生化特性的影响[J].现代农业科技,2016(7):21-22.
- [3] BHARDWAJ J, ANAND A, MAGARAJAN S. Biochemical and biophysical changes associated with magnetopriming in germinating cucumber seeds[J]. Plant Physiol Bioch, 2012, 57: 67-73.
- [4] FERNANDEZ-CRESPO E, CAMANES G, GARCIA-AGUSTIN P. Ammonium enhances resistance to salinity stress in citrus plants[J]. Plant Physiol, 2012, 169: 1183-1191.
- [5] 刘宏久,高艳明,李建设,等.不同引发处理对茄子种子萌发及其生理变化的影响[J].北方园艺,2014(21):7-11.
- [6] 吴凌云,李明,姚东伟.种子处理对黄瓜种子萌发和幼苗生长的影响[J].种子,2015,34(7):78-79.
- [7] 徐剑锋,张丰伟,王洋.不同引发剂对老化梗稻种子活力及生理特性的影响[J].中国农学通报,2012,28(9):21-25.
- [8] 李合生.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [9] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:142-231.
- [10] BALESTRAZZI A, CONFALONIERI M, MACOVEI A, et al. Seed imbibition in *Medicago truncatula* Gaertn: Expression profiles of DNA repair genes in relation to PEG-mediated stress[J]. Plant Physiol, 2011, 168: 706-713.
- [11] 阮松林,薛庆中.植物的种子引发[J].植物生理学通讯,2002,38(2):198-202.
- [12] 李明,常瑶,姚东伟,等.蔬菜种子引发研究现状[J].上海农业学报,2013(5):142-145.
- [13] 王志欣,万中原,栾兆水,等.大白菜钾盐引发效果分析[J].山东农业科学,2013,45(8):47-50.
- [14] 陈宝悦,陈子敬,王倩.聚乙二醇6000引发对芹菜种子萌发及幼苗生长的影响[J].北方园艺,2016(6):10-13.
- [15] 郑曼曼.种子引发对旱直播水稻萌发、生长及产量的影响[D].武汉:华中农业大学,2015.
- [16] 杨永青,汪晓峰.种子活力与生物膜的研究现状[J].植物学通报,2004,21(6):641-648.
- [17] 徐金金.不同化学引发剂对不结球白菜种子引发效果的研究[D].南京:南京农业大学,2011.

Effect of Different Priming Methods on Seed Germination and Physiological Characteristics of Seedlings in Aged Pumpkin

JIN Xiaoqing^{1,2,3}, ZHEN Ai^{1,2,3}, HU Xiaohui^{1,2,3}

(1. College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Key Laboratory of Protected Horticultural Engineering in Northwest, Ministry of Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100; 3. Shaanxi Province Facility Agriculture Engineering Center, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: With the aged pumpkin seed as experimental materials, treatments including different concentration, priming time, and priming temperature of three initiators (CaCl_2 , GA_3 , PEG 6000) were set, with H_2O as control, the effect of different priming methods on seed germination and physiological characteristics of aged pumpkin seedlings were investigated. The results showed that, compared with the CK, 1.0% CaCl_2 primed 8 hours under low temperature at 8 °C was the optimal method for the priming of aged pumpkin seeds, the germination energy, germination rate, germination index, and vigor index were enhanced by 20%, 22%, 18% and 66% respectively. Moreover, the activities of SOD and CAT in aged pumpkin seedling leaves were enhanced, while the MDA contents were decreased significantly, and the plant growth well improved. The results suggested that the aged pumpkin seed germination could be promoted and the effects of seed aging and decay on physiological status of seedlings could be alleviated by enhancing the antioxidant capacity of seedlings.

Keywords: aged pumpkin seed; seed priming; germination; physiological characteristic