

聚乙二醇对老化甘蓝种子活力的影响

崔路路, 于海霞, 李景富, 许向阳

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以“晚丰”甘蓝种子为试材,采用不同分子量、浓度、处理时间的 PEG 渗透剂分别对自然老化和人工老化种子进行组合引发处理,比较了不同 PEG 处理组合对老化甘蓝种子可溶性蛋白质含量、丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性的影响。结果表明:PEG 对老化种子有一定修复作用,可以提高种子活力;PEG 分子量因素对自然老化种子的影响最大,浓度次之,处理时间最小;而经 PEG 渗透调节后老化种子萌发代谢过程有所改变,其中 MDA 含量比对照降低,可溶性蛋白质含量有所提高,抗氧化酶系统活性高于对照组;同时因老化条件的不同,自然老化与人工老化在生理生化方面存在差异,对 PEG 引发反应也有所区别,自然老化种子 PEG 引发效果较明显。

关键词:甘蓝;PEG;人工老化;自然老化;种子活力

中图分类号:S 565.401 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)24-0031-04

种子“老化”或“劣变”是伴随种子贮藏时间而发生的一种循序渐进的、自然不可逆的变化,可分为自然条

第一作者简介:崔路路(1987-),男,硕士研究生,研究方向为蔬菜遗传育种研究。E-mail:neaucui@163.com.

责任作者:许向阳(1969-),男,博士,研究员,博士生导师,研究方向为蔬菜遗传育种及生物技术和蔬菜种质资源。E-mail:xyy709@126.com.

基金项目:国家现代农业产业技术体系专项资金资助项目(CARS-25);黑龙江省杰出青年科学基金资助项目(JC201204);哈尔滨市科技创新人才研究专项资金资助项目(2011RFXXN031);东北农业大学创新团队基金资助项目;东北农业大学博士启动基金资助项目(2009RC09)。

收稿日期:2013-09-03

件和人工条件 2 种老化方式^[1]。人工老化一般是在高温、高湿条件下模拟自然老化过程,人为控制加速种子老化的方法。在种子科学研究中常用来预测种子耐贮性和种子相关性能,但自然老化和人工老化在劣变阶段和深度上存在本质差异^[2-3]。与人工老化作用相反的是人工引发,其可显著提高种子活力。聚乙二醇(PEG)是一种常见的高分子化合物引发渗透剂,具有多种分子量如 4 000、6 000、8 000、10 000 等,其本身不易自由出入细胞壁,从而不易渗入种子活细胞对种子造成伤害,但能逆转老化作用,可有效提高种子活力。20 世纪 70 年代 Heydecker 等^[4]首次利用 PEG 处理洋葱种子,获得出苗整齐的效果。20 世纪 80 年代 Woodstocker 等^[5]发现

Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Photosynthetic Characteristics of Cucumber Seedlings Under Low Light Conditions

HAN Hao-zhang¹, WANG Xiao-li¹, TIAN Fu-fa², ZHANG Ying¹, LIU Yu¹, ZHANG Li-hua¹

(1. Second Department of Suqian College, Suqian, Jiangsu 223800; 2. Suqian Academy of Agricultural Sciences, Suqian, Jiangsu 223800)

Abstract: Taking ‘Jinyou No. 1’ cucumber seedling as material, the influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) on growth and photosynthetic characteristics of cucumber seedlings under low light conditions were studied. The results showed that: the cucumber seedling growth and root activity were decreased; root/shoot ratio and MDA content and photosynthetic capacity were increased under low light stress; GM could improve cucumber seedling growth, root activity and net photosynthetic rate; reduce the content of photosynthetic pigment, root/shoot ratio and MDA content under the condition of low light, chlorophyll a/chlorophyll b ratio did not change significantly. Arbuscular mycorrhizal fungi improved growth and photosynthesis of cucumber seedlings under low light stress conditions.

Key words: Arbuscular Mycorrhizal Fungi; weak light stress; cucumber; growth; photosynthetic characteristics

PEG 可修补老化损伤的种子膜,提高种子活力。影响 PEG 引发效果的因素很多,其中种子类型、PEG 分子量、浓度、处理时间、温度等为主要因素^[6-7]。

该试验采用引发渗透剂 PEG 对自然老化和人工老化的 2 种甘蓝种子进行不同分子量、浓度和时间的引发处理,并比较分析处理结果,测定经渗透处理后种子萌发过程中代谢进程的变化,旨在探讨 PEG 对提高老化甘蓝种子活力及萌发代谢过程中生理生化活性的影响,找出影响 PEG 引发效果的主次因素以及自然老化和人工老化的本质差异等,为生产实践和科学研究中提高种子活力及更好利用陈种子等方面提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为河北邢台华丰种子有限公司的甘蓝种子“晚丰”。去除外表开裂、颜色暗黑无光的种子,选取种皮色泽均匀、外形规则整齐的颗粒作为试验材料。自然老化的种子为 2010 年生产,人工老化种子为 2012 年生产。

1.2 试验方法

1.2.1 人工老化方法 参考郑晓鹰等^[8]的方法,在干燥器的底部加入深约 2 cm 的水后,将其放入(40±1)℃的恒温培养箱,平衡 2 d 后使干燥器内温度、湿度恒定。将经次硫酸钠消毒后的种子单层平放于干燥器内铺有 1 层纱布的铁丝网上,分别在 0、1、2、3、4、5、6、7 d 取出部分种子进行发芽试验。

1.2.2 PEG 渗透引发处理 试验采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计,分别在室温(25℃)条件下对自然老化和人工老化的甘蓝种子进行不同的 PEG 处理,处理因素与水平见表 1。以未经处理为对照组,各处理 3 次重复。

表 1 PEG 正交实验因素与水平

水平	因素		
	A PEG 分子量	B 溶液浓度/%	C 时间/h
1	6 000	15	6
2	8 000	20	12
3	10 000	25	18

表 2 人工老化对甘蓝种子发芽指标的影响

老化天数/d	0	1	2	3	4	5	6	7
发芽势/%	72.66Aa	70.06Aa	59.66Bb	50.36Cc	33.16Dd	16.93Ee	5.83Ff	1.56Gg
发芽率/%	77.33Aa	75.06Aa	60.00Bb	57.20Bc	39.00Cd	17.66De	7.06Ef	1.60Fg
活力指数	1 613.65Aa	1 550.00Bb	1 122.8Cc	1 033.6Dd	780.24Ee	332.75Ff	181.6Gg	151.0Hh

注:表中数据为 3 次重复的平均值;采用 LSD 法分析数据后大写字母表示在 0.01 水平上差异显著;小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

2.2 PEG 对老化种子的处理影响效果

根据对 2.1 人工老化种子发芽指标综合分析及前期自然老化种子的发芽试验结果,选取经人工老化处理第 4 天的甘蓝种子和自然老化种子作为 PEG 处理材料。

由表 3 可知,PEG 渗透处理自然和人工老化种子及

1.3 项目测定

1.3.1 种子发芽试验及发芽指标的测定 根据 GB/T 3543.1-3543.7 农作物种子检验规程(1995)对按试验方案处理后种子进行发芽试验。即将 100 粒种子播于铺有双层滤纸的培养皿中,在 20℃人工培养箱下进行发芽试验,每 24 h 查看 1 次发芽情况并记录。按照种子检验规程规定,第 5 天初次计数,第 10 天末次计数。每个处理 3 次重复。发芽率(%)=G/N,式中:G 为发芽总数,N 为种子数;发芽势(%)=发芽初期正常发芽数/实验种子总粒数×100%;发芽指数 $G_t = \sum G_t/D_t$,式中: G_t 为在 t 时间的发芽种子数, D_t 为相应的发芽天数;种子活力指数 $V = G_t \times S$,式中: G_t 为发芽指数,S 为种子鲜重(mg)。

1.3.2 PEG 提高种子活力后生理生化指标测定 取经 PEG 处理后萌发 5 d 的种子为材料进行测定,以未经处理作为对照。丙二醛含量(MDA)采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定^[9];可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 蛋白测定试剂盒(南京建成试剂)。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性均采用南京建成科技有限公司酶测定试剂盒测定。

1.4 数据分析

试验结果使用 Excel、SAS 8.1 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 人工老化处理对甘蓝种子活力影响

由表 2 可知,随着老化天数的延长,种子发芽势、发芽率和种子活力指数均有不同程度的降低趋势。老化第 1 天种子活力下降幅度较低,而后随着天数增加,下降幅度加大。第 4 天变化程度最大。多重比较结果表明,老化时间对种子发芽势、发芽率和种子活力指数影响均达显著水平。发芽势在 0.01 和 0.05 水平上老化 1~7 d 处理间差异达极显著和显著,发芽率在 0.01 水平上老化 2、3 d 间差异不显著,0.05 水平上差异显著。种子活力指数在 0.01 和 0.05 水平上处理 1~7 d 处理间差异达极显著和显著。

其处理组合间对种子各发芽指标的影响程度各不相同,个别组合甚至出现降低现象($A_2B_1C_3$),但总体而言,PEG 引发提高种子活力效果理想。从自然老化种子发芽指标数据方面看,PEG 对于自然老化种子的提高效果要明显一些,其发芽势、发芽率、种子活力指数最大提高

幅度分别可达到 59.48%、51.35%、176.18%。而对于人工老化种子提高效果要低一些,最大提高幅度分别为 31.96%、22.13%、16.36%,且 PEG 引发渗透不同老化种子的最佳效果组合也不相同。

根据前人研究及相关文献,将种子活力指数上述结果进行正交实验直观分析、方差分析。表 4 直观分析结果表明,PEG 分子量、浓度、时间处理 3 个因素对自然老

化和人工老化种子影响效果次序不同。对自然老化种子,分子量(A)为最主要因素,且最佳处理组合在试验中出现。而对人工老化最主要因素为浓度(B),最佳组合在试验中没有出现。但对于 2 种老化方式的种子,浓度因素均高于时间因素(B>C),且影响因素所处水平相同(B₂C₃)。

表 3 PEG 处理对甘蓝种子发芽指标的影响

材料	编号	处理方案	发芽势 / %	发芽率 / %	活力指数
自然老化	1	A ₁ B ₁ C ₁	38.33	41.22	1 131.33
	2	A ₁ B ₂ C ₂	40.71	43.80	1 556.02
	3	A ₁ B ₃ C ₃	52.31	56.21	1 519.55
	4	A ₂ B ₁ C ₃	34.31	37.32	612.79
	5	A ₂ B ₂ C ₁	40.78	45.78	771.50
	6	A ₂ B ₃ C ₂	35.84	40.23	894.68
	7	A ₃ B ₁ C ₂	35.84	39.0	1 475.71
	8	A ₃ B ₂ C ₃	56.84▲	60.72▲	2 038.07▲
	9	A ₃ B ₃ C ₁	43.17	45.03	1 318.54
	CK		35.64	40.12	737.94
人工老化	1	A ₁ B ₁ C ₁	36.41	40.00	738.25
	2	A ₁ B ₂ C ₂	35.22	36.82	735.50
	3	A ₁ B ₃ C ₃	37.84	38.39	780.75
	4	A ₂ B ₁ C ₃	42.51	45.33	803.75▲
	5	A ₂ B ₂ C ₁	39.61	42.51	711.75
	6	A ₂ B ₃ C ₂	40.30	43.27	673.00
	7	A ₃ B ₁ C ₂	39.64	41.02	632.50
	8	A ₃ B ₂ C ₃	45.21▲	48.39▲	750.00
	9	A ₃ B ₃ C ₁	40.01	44.29	635.50
	CK		34.26	39.62	690.75

注:数据为 3 次重复平均值,下同;▲为最佳的处理效果,下同。

表 4 PEG 对人工和自然老化正交实验处理效果的直观分析

材料	因素	直观分析				因素次序	最佳组合
		k ₁	k ₂	k ₃	R		
自然老化	A	1 462.3	759.7	1 610.8	851.1	ABC	A ₃ B ₂ C ₃ ▲
	B	1 133.3	1 455.2	1 244.3	321.9		
	C	1 133.8	1 308.8	1 390.1	256.3		
人工老化	A	751.5	729.5	672.7	78.8	BCA	A ₁ B ₂ C ₃
	B	459.7	732.4	696.5	272.7		
	C	659.2	680.3	778.2	97.84		

2.3 PEG 提高种子活力后生理生化指标测定

取 PEG 最佳处理组合以自然老化和人工老化种子为材料进行发芽试验,萌发第 5 天测定各项生理生化指标,进一步研究微观因子对活力影响情况以及自然和人

工 2 种老化方式的微观差异。由表 5 可知,老化种子经 PEG 处理后,萌发代谢过程中可溶性蛋白质含量、抗氧化酶系统活性均有所提高,而 MDA 含量降低,且自然老化种子提高或下降的幅度明显一些。MDA 含量下降,表示膜脂发生过氧化损伤的程度减小,可能是 PEG 修复了一定的膜损伤。作为清除活性氧、保持细胞膜稳定性的抗氧化酶系统活性提高,可能是 PEG 减缓了其下降速度。种子活力提高后,蛋白质含量上升说明 PEG 引发促进萌发代谢是蛋白质的转化,为新物质合成提供基础。自然和人工老化相比较,人工老化虽宏观方面出现种子各发芽指标降低,但在微观因子方面,PEG 处理之后人工老化的种子并没有出现过多变化。

表 5 最佳组合处理后种子生理生化指标

测定方案		可溶性蛋白质含量 /g · L ⁻¹	丙二醛含量 /μmol · g ⁻¹	POD 活性 /U · mg ⁻¹ prot	SOD 活性 /U · mg ⁻¹ prot	CAT 活性 /U · mg ⁻¹ prot
自然	A ₃ B ₂ C ₃	0.42861	5.1480	34.07	27.83	30.06
老化	CK	0.39575	5.5541	30.76	23.90	29.21
人工	A ₁ B ₂ C ₃	0.43562	5.0871	38.73	26.08	33.09
老化	CK	0.42710	5.1726	37.60	25.75	33.97

3 讨论

种子在发生老化过程时最初是由于膜系统受损,渗透量增加引起的。正常种子的膜系统可以在相关酶的催化下促使细胞膜更新、修复,并清除由于磷脂中不饱和脂肪酸自身氧化而产生的有毒物质^[10-11]。当种子处于自然或人工等不利条件时,其酶的活性降低,更新修复作用缓慢,因而造成累积性伤害,导致膜的损伤。经 PEG 处理后,老化种子内抗氧化酶系统活性提高,MDA 含量下降。说明 PEG 能有效减缓 POD、SOD 和 CAT 活性下降的幅度,缓解 MDA 含量的增加,有利于消除体内有毒物质的积累,对细胞起着保护作用,从而逆转老化作用。而 PEG 作为高分子化合物渗透剂,也可以提供一定的水势环境,减缓种子萌发初始时的吸水速度,有利于种子进行细胞膜修复,降低膜透性^[6-7]。

人工加速老化试验是预测种子耐藏性的常用方法,其利用人为控制高温高湿环境短时间内加速种子老化,从而检测种子相关性能。不少学者认为^[12-14],种子在高温高湿条件下老化与自然条件下老化的机制是一致的,只是劣变速度大大提高了。然而李稳香等^[15]研究表明,自然老化和人工老化在田间生产性能上存在本质差异。邹德曼^[16]研究认为,人工老化由于时间短,虽然膜受到暂时损伤却不致于进一步伤损到细胞器和酶系统,种子重新吸水,膜系统虽修复缓慢,但其细胞器和酶系统修复迅速,对田间性能影响小。

参考文献

- [1] 杨建平,唐玉林. 小麦种子衰老的生理生化分析[J]. 种子,1955(2): 13-14.
- [2] 颜启传. 种子活力的测定方法原理与技术[M]. 北京:中国农业出版

社,2005.

- [3] 孔治有,刘叶菊,覃鹏. 人工老化处理对小麦种子生理生化特性的影响[J]. 亚热带植物科学,2011,39(1):17-20.
- [4] Heydecker W, Higgins J, Gulliver R L. Accelerated germination by osmotic seed treatment [J]. Nature,1973,246:42-44.
- [5] Woodstock L W, Tao K L. Prevention of imbibitional injury in low vigor soybean Embryonic axes by osmotic control of water uptake[J]. Physiologia Plantarum,1981,51:133-139.
- [6] 崔秀敏,王秀峰,杜宏斌. PEG 引发种子的研究进展[J]. 塔里木农垦大学学报,2000(12):4.
- [7] 王慧超,何士敏,李昌满. PEG 渗透处理对植物种子的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(6):2224-2226.
- [8] 郑晓鹰,任祝三. 测定种子活力方法之探讨[J]. 种子,1982(4):31-34.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:164-168.
- [10] 张晓艳,李宇歌. PEG 渗透处理对老化种子活力的影响[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版),2005,5(2):50-52.
- [11] 吴道藩,宋明. 提高甘蓝种子活力的方法与机理研究[J]. 园艺学报,2002,29(6):524-526.
- [12] Delouche J C, Baskin C C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots[J]. Seed Science and Technology,1973(3): 427-452.
- [13] Basra S M A, Ahmad N, Khan M, et al. Assessment of cotton deterioration during accelerated aging[J]. Seed Science and Technology,2003,31(3): 531-540.
- [14] Machado N B, Custodio C C, Takaki M. Evaluation of naturally and artificially aged seed of *Passiflora vulgaris* [J]. Seed Science and Technology, 2001,29(1):137-149.
- [15] 李稳香,颜启传. 杂交水稻自然老化种子与人工老化种子性能差异研究[J]. 杂交水稻,1997,12(3):26-28.
- [16] 邹德曼. 作物种子物理学[M]. 杭州:浙江农业大学出版社,1984:99-115.

Effect of PEG on Seed Vigor of Aging Cabbage

CUI Lu-lu, YU Hai-xia, LI Jing-fu, XU Xiang-yang

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking 'Wanfeng' cabbage seeds as material, PEG penetrant combination treatment with different molecular weight, concentration, treatment time were adopted to natural aging and artificial aging of seeds, the effects of different combination of PEG treatment on soluble protein content, malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) activity were compared. The results showed that PEG had some repair effect on aging seed, could improve seed vigor. PEG molecular had significant influence on natural aging seeds, followed by was the factors of PEG concentration, the minimum was PEG treatment time. Aging seed metabolic germination had changed after PEG-osmotic processes, including MDA content was lower than control, soluble protein content increased, antioxidant enzymes activity was higher than CK. At the same time due to aging conditions, there were difference on physiological and biochemical between the natural aging and artificial aging seeds, including the PEG induced reactions, natural aging seeds had the most obvious induced reactions after PEG triggered.

Key words: cabbage; PEG; artificial aging; natural aging; seed vigor