

超干老化向日葵种子吸胀萌发过程生理机制的研究

孔德政¹, 田云芳², 曹艳玲³, 刘艺平¹

(1. 河南农业大学, 河南 郑州 450002; 2. 郑州师范高等专科学校, 河南 郑州 450044; 3. 信阳市农业技术推广站, 河南 信阳 464000)

摘要:研究了超干向日葵种子老化后萌发过程的生理机制, 结果表明, 超干向日葵种子老化后鲜质量、发芽率、发芽指数及活力指数与未超干的相比均有显著变化; 超干有利于向日葵种子活力的保持, 且以含水量 2.08% 的超干种子各项指标提高幅度最大; 随着种子的萌发, 热稳定蛋白含量减少; 超干的向日葵种子比未超干的 MDA 含量低, 超干能有效地减少种子贮藏期间有毒物质的积累; 超干的向日葵种子的抗氧化酶系统保持最好, 减轻或阻止了活性氧启动的脂质过氧化作用, 避免对膜系统的损伤, 保证超干种子的正常萌发。

关键词:向日葵; 种子; 含水量; 超干; 人工老化; 萌发; 热稳定蛋白; MDA; 抗氧化酶

中图分类号: S565.5041 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2008)04-0168-04

The Physiological Mechanism Study of Ultradrying and Aging Sunflower Seeds During Germinating

KONG De-zheng¹, TIAN Yun-fang², CAO Yan-ling³, LIU Yi-ping¹

(1. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Zhengzhou Teachers College, Zhengzhou 450044, China; 3. Agrotechnical Station of Xinyang, Xinyang 464000, China)

Abstract: The physiological mechanism study of ultradrying and aging sunflower seeds during germinating showed that fresh weight, germination percent, germination index and vigor index of ultradried sunflower seeds were significant different from ultradried after being aged; the ultradrying storage helped to keep the vigor of sunflower seeds and especially all indexes of ultradried sunflower seeds (MC = 2.08%) were improved most. With the germinating of seeds, the content of heat-stable proteins decreased; MDA content of ultra-dried sunflower seeds were lower than that of unltra-dried ones; anti-oxidation enzyme system of the seeds (MC = 2.08%) retained best, which alleviated or prevented the process of the super-oxidation of the inner membrane lipids started by active oxygen, avoided the harm to membrane system, ensured that seeds germinated smoothly.

Key words: Sunflower; Seed; Moisture content (MC); Ultradrying; Accelerated aging; Bourgeon; Heat-stable proteins; MDA; Anti-oxidation enzymes

近 20 年来, 种子超干贮藏研究已取得了相当大的进展, 并成为国际植物遗传资源委员会 (IBPGR) 近年来资助的重点研究项目。郑光华先生 1998 年在 Nature 上发表的《超干燥贮藏种子 - 种子种质保存技术的新突破》, 标志着我国在种子种质节能保存新技术研究领域获得了突破性进展。

种子超干贮藏作为一种新的种质资源保存技术, 其推广应用还有若干问题尚待深入研究。例如: 种子吸胀损伤的机理、超干种子在随后重新吸胀过程中的修复机制等, 还需经大量的试验搞清种子的

特性, 才能将其推广应用。本研究以向日葵种子为例, 探索研究超干向日葵种子老化后萌发过程的生理机制。

1 材料和方法

1.1 试验材料及处理

供试材料为当年生种子“大笑金黄”向日葵 (*Helianthus annuus* ‘Big Smile’), 测定种子初始含水量、初始发芽率及活力。

1.1.1 种子含水量的测定 根据《国际种子检验规

收稿日期: 2008-02-11

基金项目: 河南省杰出青年基金 (0412001900); 河南省高校创新人才培养工程项目

作者简介: 孔德政 (1965-), 男, 江苏高淳人, 博士, 副教授, 主要从事花卉栽培生理研究。

程》^[1]低恒温烘箱法,重复3次。

1.1.2 种子发芽率及活力的测定 根据《国际种子检验规程》,取种子50粒,在光照培养箱内恒温25℃,加光照80 W,以培养皿内加3张滤纸为发芽床,逐日数种子发芽粒数,7 d计算发芽率(GP),发芽指数(GI)和种子活力指数(VI)。

$$VI = GI \times Sx \quad GI = \sum (G/Dt)$$

G:t日的发芽数;Dt:相应的发芽日数;Sx:发芽X天幼苗鲜质量

1.2 试验方法

1.2.1 干燥与贮藏 将向日葵种子放入尼龙网袋,埋于干燥器内硅胶中,硅胶与种子重量比为10:1,用凡士林密封干燥器。25℃恒温下脱水干燥,每天更换经120℃充分干燥冷却后的硅胶。每隔一定时间称重,以制备不同含水量的超干种子。超干种子密封于双层铝铂袋。种子含水量根据《国际种子检验规程》,重复3次。

1.2.2 人工老化处理 参照程红焱^[2]方法,将超干

表1 人工老化后向日葵种子的发芽情况

含水量/ % Water content	鲜质量/ g Fresh weight		发芽指数 Germination index		活力指数 Vigor index		发芽率/ % Germination percent	
	未老化 Non-aging	老化 Aged	未老化 Non-aging	老化 Aged	未老化 Non-aging	老化 Aged	未老化 Non-aging	老化 Aged
	7.71	3.67	2.08	1.27	7.71	3.67	2.08	1.27
7.71	2.00a	1.03c	4.65a	1.29d	9.30a	1.34d	80.00a	23.60c
3.67	2.00a	1.48b	4.53a	4.04b	9.05ab	5.00c	78.40a	73.20a
2.08	1.98a	1.91a	4.30b	4.47a	8.53b	8.53a	78.00a	76.40a
1.27	2.02a	1.90a	4.28b	3.71c	8.67b	7.02b	77.20a	57.60b

注:相同字母表示差异不显著,p=0.05。
Note:With identical letter indicates that difference is not significant,p=0.05.

从表1可以看出,老化后不同含水量的种子各项指标与老化前相比均下降,以未超干的即MC为7.71%的向日葵种子下降最多;老化后不同含水量的向日葵种子之间进行比较,超干种子发芽后的各项指标明显高于未超干种子,且以MC为2.08%的各项指标值最大。含水量为7.71%的种子与种子初始发芽各项指标相比明显降低,适度干燥的含水量为3.67%和2.08%的种子与未超干老化后的种子相比,仍有较高的发芽率和发芽指数,表现出较强的耐藏性。过干的含水量为1.27%的种子发芽率和活力指数虽然有明显的下降,但与老化后未超干的相比,也具有较高的发芽率与活力指数。从老化后种子的发芽情况来看,MC为2.08%的种子各项指标均极显著高于未超干种子。也就是说,2.08%最接近向日葵种子超干贮藏的最适含水量。

2.1 老化种子萌发过程中热稳定蛋白含量的变化

从图1可以看出,种子在萌发过程中热稳定蛋白含量处于下降趋势,即随着种子的萌发,热稳定蛋白

和未超干种子放入50℃的恒温箱中老化至未超干种子发芽率降至50%左右。

1.2.3 回水处理 发芽前,将种子依次放入盛有饱和氯化钙溶液(相对湿度为35%)、饱和氯化铵溶液(相对湿度为70%)和水(相对湿度为100%)的干燥器中,凡士林密封,逐级平衡24 h。

1.2.4 发芽率及活力测定 根据《国际种子检验规程》^[1],重复3次。

1.2.5 热稳定蛋白的测定 参照杨晓泉等^[3]的方法略加修改。

1.2.6 MDA含量的测定 参照赵世杰等^[4]的TBA法。

1.2.7 抗氧化酶活性测定 参照朱诚酶^[5]活性测定法。

2 结果与分析

经50℃人工老化后回湿处理,测定不同含水量向日葵种子的发芽率及活力,结果如表1所示。

白含量减少,究其原因:发芽种子或多或少都会发生蛋白质代谢,在蛋白质分解酶的作用下,贮藏蛋白被分解成供胚发育的氨基酸^[6]。

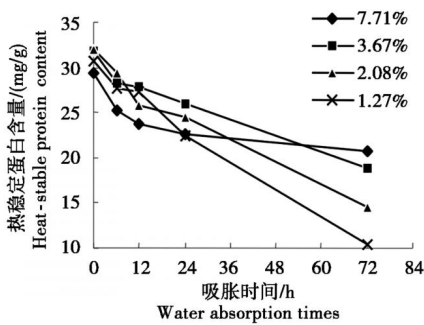


图1 人工老化后不同含水量向日葵种子萌发过程中热稳定

Fig.1 Changes of heat-stable protein content of different aged sunflower seeds during bourgeoning

2.2 老化种子萌发过程中丙二醛(MDA)含量的变化

从图2可以看出,超干向日葵种子MDA含量始

终显著低于未超干种子,说明超干种子在萌发过程中膜脂过氧化程度较低,超干能有效地清除种子贮藏期间有毒物质的积累。在吸胀6 h,不同含水量种子内的MDA含量出现一个小高峰,随后快速下降,萌发后期超干种子内MDA含量又有所增加,这与种子萌发后子叶的衰老有关。

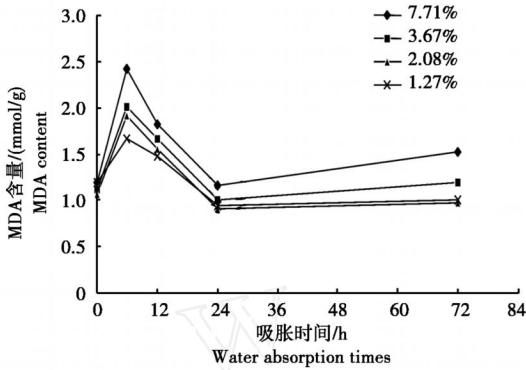


图2 人工老化后不同含水量向日葵种子萌发过程中MDA含量的变化

Fig. 2 Changes of MDA content of different aged sunflower seeds during bourgeoning

2.3 老化种子萌发过程中抗氧化酶系统的变化

2.3.1 老化种子萌发过程中超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化 从图3可以看出,种子在萌发过程中,适度超干种子的种胚内SOD活性略高于未超干和过干种子,这说明种胚内SOD活性很稳定,即使种子活力已降至很低,SOD都能保持较高水平。向日葵种子在吸胀6 h后,SOD活性有个小高峰,这与氧自由基的含量有关,可能是高水平的氧自由基诱导SOD活性增高。

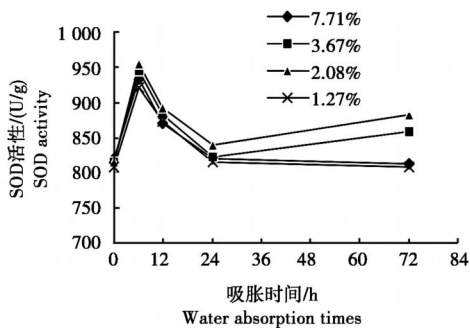


图3 人工老化后不同含水量向日葵种子萌发过程中SOD活性的变化

Fig. 3 Changes of SOD activity of aged sunflower seeds during bourgeoning

2.3.2 老化种子萌发过程中过氧化氢酶(CAT)活性的变化 从图4可以看出,种子萌发过程中,在吸胀早期,不同含水量向日葵种子内CAT活性变化并不明显,略处于上升趋势,然而第2天后,超干种子内CAT活性近于不变。不同含水量的种子种胚内CAT活性能迅速上升,可能是吸胀过程中CAT活性

保持较高,以清除种子内积累的活性氧,从而有效地保持了种子活力,利于向日葵种子的顺利发芽。

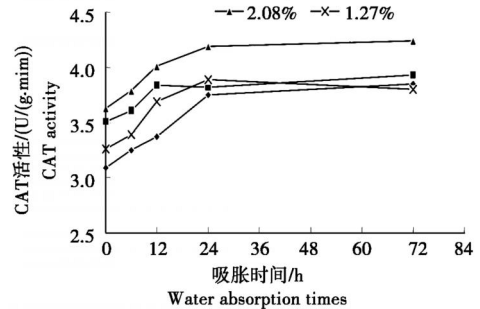


图4 人工老化后不同含水量向日葵种子萌发过程中CAT活性的变化

Fig. 4 Changes of CAT activity of aged sunflower seeds during bourgeoning

2.3.3 老化种子萌发过程中抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)活性的变化 从图5可以看出,种子在萌发过程中,超干向日葵种子内AsA-POD活性均显著高于未超干种子,超干种子内AsA-POD酶活性保持较高水平,为种子萌发过程中清除细胞内因脂质过氧化产生的有害物质奠定了基础。

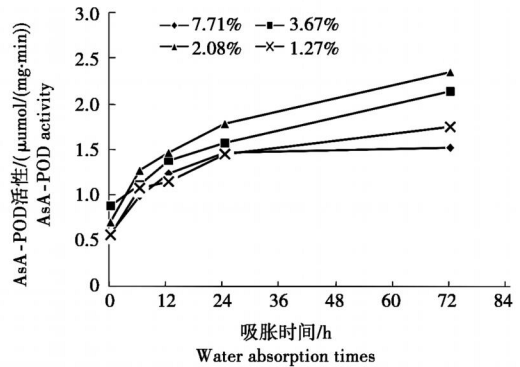


图5 人工老化后不同含水量向日葵种子萌发过程中AsA-POD活性的变化

Fig. 5 Changes of AsA-POD activity of aged sunflower seeds during bourgeoning

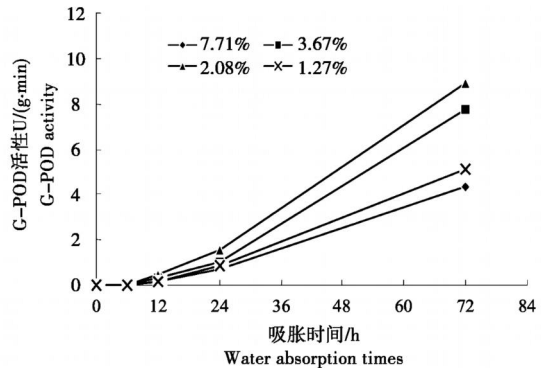


图6 人工老化后不同含水量向日葵种子萌发过程中G-POD活性的变化

Fig. 6 Changes of G-POD activity of aged sunflower seeds during bourgeoning

2.3.4 老化种子萌发过程中愈创木酚过氧化物酶(G-POD)活性的变化 如图6所示,种子在萌发过程中,超干种子的种胚内G-POD活性显著高于未超干种子,且适度超干种子的种胚内该酶活性最强。

另外,愈创木酚过氧化物酶只有在种子萌动时的种胚中才逐渐产生,在超干过程中和老化后并未检测到此酶活性。是否能以此为标准,判断种子是否萌发,则需要大量资料进行验证。

3 讨论

本试验结果表明,超干贮藏是有一个最适含水量,并不是含水量越低越好。向日葵种子超干贮藏最适含水量在2.08%~1.27%,水分过高过低均不利于室温下长期贮藏。随着种子含水量的进一步降低,生活力和活力反而下降,这可能与干燥损伤,细胞膜系统的破坏以及脂质过氧化的加剧等密切相关^[7]。

从试验结果可以看出,超干处理能提高种子贮藏稳定性的一个可能原因就是种子内SOD、CAT和AsA-POD等抗氧化酶系统保持完好,一旦种子吸胀萌动可以立即恢复酶活性,使种子在贮藏期间劣变积累的过多有毒物质及时得到清除,避免了对膜系

统的损伤,保证了超干种子进入正常的萌发状态。本试验再次表明,适度超干对提高种子贮藏稳定性的效果较好。另外,愈创木酚过氧化物酶只在萌动的种胚中才逐渐产生,是否可以此判断种子的萌发,还需进一步验证。

参考文献:

- [1] 国际种子检验协会(ISTA). 国际种子检验规程[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
- [2] 程红焱,郑光华,陶嘉龄,等. 油菜种子含油量与超干处理效果的关系[J]. 植物学集刊,1994(7):289-293.
- [3] 杨晓泉,姜孝成,傅家瑞. 花生种子耐脱水力的获得与热稳定蛋白的关系[J]. 植物学报,1998,40(4):337-342.
- [4] 赵世杰,许长成,邹琦. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):207-210.
- [5] 朱诚. 种子种质超干保存及其耐干性的生理生化基础[D]. 杭州:浙江大学,2003.
- [6] [日]中山包著. 发芽生理学[M]. 北京:农业出版社,1988:118-121.
- [7] 阮松林,胡伟民,王洪秀,等. 贮藏前浸种回干对杂交水稻种子抗劣变能力的影响[J]. 浙江农业大学学报,1998,24(6):631-632.