

芝麻种子老化处理生理特性变化及 种子活力适宜检测方法研究

梅鸿献,刘艳阳,武轲,杜振伟,郑永战

(河南省农业科学院 芝麻研究中心,河南 郑州 450002)

摘要:以4种经过人工老化处理不同类型(单秆型白芝麻、分枝型白芝麻、单秆型黑芝麻和分枝型黑芝麻)芝麻种子为试验材料,采用标准发芽试验、电导率测定、MDA含量测定、POD活性测定和TTC还原量等方法进行种子活力测定,研究老化处理对芝麻种子生理生化的影响,并与模拟田间出苗率进行相关性分析,以确定不同类型芝麻种子活力检测的适宜方法。结果表明:芝麻种子老化过程中,发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、TTC还原量和POD活性逐渐下降,MDA含量逐渐增加,电导率变化趋势材料间不一致;不同种质的抗老化能力存在差异。单秆型白芝麻种子活力检测的适宜方法为发芽率和电导率测定;分枝型白芝麻种子活力检测的适宜方法是发芽率、电导率测定、MDA含量测定、POD活性测定和TTC还原量测定;单秆型黑芝麻种子活力检测的适宜方法是发芽率和POD活性测定;分枝型黑芝麻种子活力检测的适宜方法是发芽率和TTC还原量测定。芝麻在42~43℃、100%RH条件下,人工老化处理的最佳时间为72h。

关键词:芝麻;人工老化;种子活力;生理特性;活力检测方法

中图分类号:S563.01 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2013)05-0169-06

Study on the Changes of Physiological Characteristics by Artificial Aging and the Suitable Seed Vigor Testing Methods for Sesame

MEI Hong-xian, LIU Yan-yang, WU Ke, DU Zhen-wei, ZHENG Yong-zhan

(Sesame Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Four different types of sesame germplasm resources (Single-stem white sesame, Branched-stem white sesame, Single-stem Black sesame and Branched-stem black sesame) treated with artificial ageing were used in this study. The standard germination test, electrical conductivity test, MDA content test, POD activity test and TTC reductive amounts test were conducted. The result showed that the germination potential, germination rate, germination index, vigor index, TTC reductive amounts and POD activity declined gradually with the increase of seed aging time, whereas MDA content increased gradually. The trend of conductivity change was not consistent between materials. The differences of resistance to artificial aging existed among the four accessions. With the correlation analysis between the seed vigor indexes and the simulated field emergence rate, we got the conclusions that the suitable seed vigor testing methods for Single-stem white sesame were germination rate and electrical conductivity tests; for Branched-stem white sesame were germination rate, electrical conductivity test, MDA content test, POD activity test and TTC reductive amounts test; for Single-stem black sesame were germination rate and POD activity test; and for the Branched-stem black sesame were germination rate and TTC reductive amounts test. The results showed that accelerated aging under conditions of 42–43℃ at 100% RH for 72 h were appropriate for an accelerated aging test for seed vigor in sesame.

Key words: Sesame; Accelerated aging; Seed vigor; Physiological characteristics; Vigor testing methods

芝麻是我国四大油料作物之一,是重要出口创汇农产品。我国拥有芝麻种质资源5000余份,是世

收稿日期:2013-04-21

基金项目:国家芝麻产业技术体系建设项目(CARS-15)

作者简介:梅鸿献(1974-),男,河南商丘人,副研究员,博士,主要从事芝麻种质资源研究。

通讯作者:郑永战(1963-),男,河南宝丰人,研究员,博士,主要从事芝麻种质资源研究。

界芝麻资源保存数量最多的国家之一^[1]。芝麻种子内含有大量的脂肪,通透性差,易吸湿返潮、发热霉变、贮藏稳定性差,易发生种子老化现象^[2]。这种现象不但影响芝麻种子萌发、幼苗生长及后期种子的产量与品质,而且对种质资源的保存、开发和利用等产生严重的影响^[3]。种子活力是评价种子质量的一项重要指标,活力测定方法的研究一直为种子工作者所重视与关注。

人工加速老化的方法能在较短的时间内获得不同活力的种子,为种子活力测定方法的研究提供材料基础。我国学者对(58±1)℃人工加速老化处理后种子生理生化变化进行研究,发现种子老化及劣变是一个非常复杂的过程,涉及到膜结构和功能的变化,基本代谢的变化等^[4-5]。Thant等^[6]研究表明,芝麻人工老化最适处理条件是42~43℃、100% RH处理120 h。对于不同类型的芝麻品种,由于其本身的化学成分不同,影响种子活力的构成因素也不同,因此,有必要针对不同类型芝麻种子采用不同的活力检测方法^[7]。然而,目前尚未见到在最适人工老化处理温度下,对不同类型芝麻种子活力测定适宜的报道。因此,本研究采用标准发芽试验、电导率测定、TTC定量测定、丙二醛含量和POD活性测定等方法对人工老化获得的4种类型芝麻种子进行测定,研究人工老化处理对芝麻种子生理生化的影响,并与模拟田间出苗率进行相关分析,以确定不同类型芝麻种子活力检测的适宜指标和方法,为芝麻种子的保存和定时更新繁殖提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为白芝麻與芝2018(单秆型)、临颖王孟白芝麻(分枝型)、黑芝麻湖北独角黄(单秆型)和湖北应山黑芝麻(分枝型),由河南省芝麻研究中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 人工老化处理 参照Thant等^[6]人工老化处理方法,在高温(42~43℃)、高湿(100% RH)密闭环境下,分别处理24、48、72、96、120 h。具体方法:将干燥器下部装水,放入恒温培养箱内,调节箱内温度,平衡48 h后,使干燥器内温度、湿度恒定,此时将种子装入尼龙袋,放入干燥器内进行处理。处理完毕后,置于室内阴凉处风干备用。以未经老化处理的种子为对照(CK)。

1.2.2 标准发芽试验 参照《国际种子检验规程》

中的发芽条件^[8]进行发芽试验,将处理种子和未处理种子(CK)均匀置于铺有2层滤纸的培养皿内,每皿50粒,重复3次,在25℃、湿度85%、光照16 h、黑暗8 h的恒温培养箱内进行发芽。以胚根突破种皮后长度达到与种子等长、胚芽达到种子长度50%时记为发芽。按照农作物种子检验规程 GB/T 3543.4-1995,每天调查记录每皿种子发芽数,发芽势和发芽率分别为3、7 d发芽的百分率。发芽指数、活力指数计算如下:

发芽指数: $GI = \sum (G_t/D_t)$, G_t : 第 t 天的发芽率; D_t : 发芽天数;

活力指数: $VI = GI \times S$, S 为10株鲜样质量的平均值。

1.2.3 生理生化指标的测定 电导率测定参照Hong等^[9]的方法;脱氢酶活性测定参照胡晋^[10]TTC改进法;丙二醛(MDA)含量测定采用黄学林等^[11]双组分分光光度计法;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[12]。

1.2.4 模拟田间出苗率测定 种子在人工气候培养箱和室外自然环境之间存在一定差异,所以模拟田间自然环境,观察种子出芽率对作物生长发育是必要的。取水分适宜的大田土壤用孔径为2.0 mm的筛子去除杂质,然后放置于培养盒内,每品种随机选取100粒完整、饱满种子播于土壤中,均匀覆土约1.5~2.0 cm厚,3次重复,室温下第7天统计出苗率。

2 结果与分析

2.1 芝麻种子人工老化过程中发芽情况和种子活力的变化

人工老化处理后,不同类型芝麻种子发芽情况和种子活力如表1所示。从表1可以看出,随老化时间的延长,各类型芝麻种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均呈下降趋势,但不同基因型材料的变化趋势存在明显差异。湖北应山黑芝麻的活力指数在老化处理24 h极显著低于CK,发芽势、发芽率和发芽指数在处理48 h时极显著低于CK;湖北独角黄的发芽指数和活力指数在老化处理48 h极显著低于CK,发芽率在老化处理72 h极显著低于CK;而临颖王孟白芝麻和與芝2018的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数老化处理96 h时才极显著低于CK。经过120 h的人工加速老化处理后,临颖王孟白芝麻的发芽率降幅最大,为82.9%,其次为與芝2018和湖北独角黄,降幅分别为76.3%和69.7%,下降幅度最小的是湖北应山黑芝麻,为

35.0%。可见,白粒芝麻比黑粒芝麻的发芽率下降幅度大,分枝型白粒芝麻比单秆型白粒芝麻的发芽率下降幅度大,单秆型黑粒芝麻比分枝型黑粒芝麻的发芽率下降幅度大。这表明,不同芝麻种质的抗老化能力不同,分枝型黑粒芝麻的抗老化能力强于其他3种类型,而分枝型白粒芝麻的种子活力受高温高湿的影响最大。

表1 人工老化过程中芝麻种子发芽情况和活力指数

Tab. 1 The germination and vigor indexes of different types of sesame seeds by artificial aging					
材料 Materials	老化时间/h Aging time	发芽势/% Germination potential	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
舆芝 2018 Yuzhi 2018	0	88.67aA	90.00aA	0.979aA	0.027aA
	24	87.33aA	92.00aA	0.988aA	0.029aA
	48	93.33aA	96.00aA	1.040aA	0.029aA
	72	88.00aA	96.00aA	1.019aA	0.030aA
	96	0.00bB	66.00bB	0.349bB	0.008bB
	120	0.00bB	21.33cC	0.078cC	0.001cB
临颖王孟白芝麻 Linying wangmeng white sesame	0	83.33aA	93.33aA	0.970aA	0.033aA
	24	86.67aA	92.67aA	0.990aA	0.032aA
	48	78.67aA	87.33aA	0.919aA	0.029aA
	72	81.33aA	90.00aA	0.941aA	0.032aA
	96	29.33bB	62.00bB	0.554bB	0.016bB
	120	0.00cC	16.00cC	0.101cC	0.002cC
湖北独角黄 Hubei dujiaohuang	0	86.00aA	96.67aA	1.018aA	0.038aA
	24	84.00aA	93.33abA	0.984aA	0.037aA
	48	71.33bB	90.00bA	0.897bB	0.030bB
	72	53.33cC	72.67cB	0.720cC	0.025cC
	96	0.00dD	46.67dC	0.221dD	0.006dD
	120	0.00dD	29.33eD	0.129eE	0.002eD
湖北应山黑芝麻 Hubei yingshan black sesame	0	78.67aA	95.33aA	0.975aA	0.039aA
	24	77.33abA	96.00abA	0.965aA	0.030bB
	48	70.00bcAB	87.33bcAB	0.882abAB	0.027bcBC
	72	64.67cB	79.33cdBC	0.808bB	0.023cC
	96	20.00dC	74.00dC	0.554cC	0.016dD
	120	2.00eD	62.00eD	0.307dD	0.008eE

注: 同列中小写字母不同为差异显著 ($P < 0.5$), 大写字母不同为差异极显著 ($P < 0.01$)。
Note: Different lowercase letters in the same row meant significant differences ($P < 0.5$), and different capital letters meant extremely significant differences ($P < 0.01$).

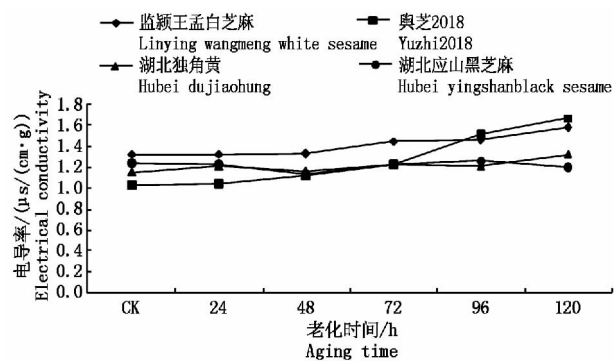


图1 不同老化处理对芝麻种子浸出液电导率的影响
Fig. 1 Effect of different aging time on electrical conductivity of sesame seed

2.2 芝麻种子人工老化过程生理特性的变化

不同类型芝麻种子经过老化处理后,电导率、MDA含量、POD活性和TTC还原量的测定结果如图1~4所示。

从图1可以看出,临颖王孟白芝麻和舆芝2018随着人工老化处理时间的延长,芝麻种子浸出液的电导率逐渐增加,舆芝2018增加速度比临颖王孟白芝麻快;而湖北独角黄和湖北应山黑芝麻没有明显的变化趋势。

从图2可以看出,种子内MDA含量随着老化时间的延长而上升,特别是在处理96h时,各类型芝麻种子MDA含量升高最快。经过120h的人工加

速老化处理后, 與芝 2018 和临颖王孟白芝麻的 MDA 含量比 CK 增加较大, 分别为 72.47% 和 64.33%。湖北独角黄和湖北应山黑芝麻的 MDA 含量比 CK 增加较少, 分别为 46.42% 和 45.71%。

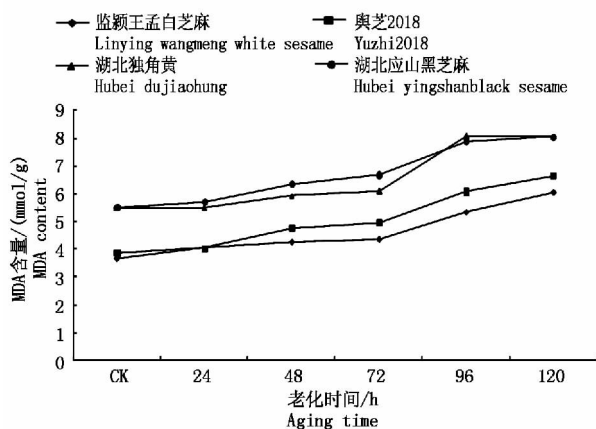


图2 不同老化处理对芝麻种子 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effect of different aging time on

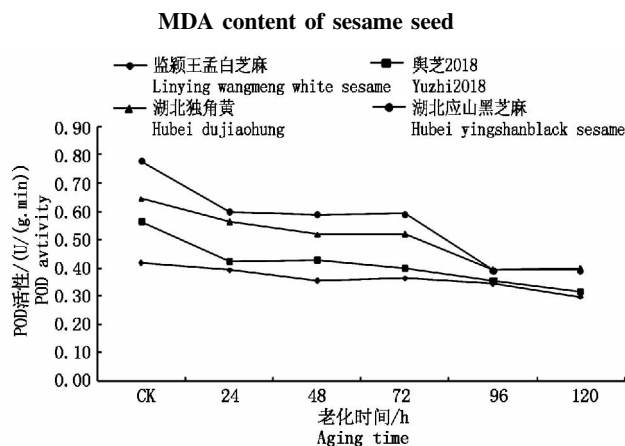


图3 不同老化处理对芝麻种子 POD 活性的影响

Fig. 3 Effect of different aging time on

POD activity of sesame seed

表2 芝麻种子各项指标与模拟田间出苗率之间的相关分析

Tab. 2 Correlation analysis between the simulated field emergence rate and the indoor testing indexes

指标 Indexes	與芝 2018 Yuzhi 2018	临颖王孟白芝麻 Linying wangmeng white sesame	湖北独角黄 Hubei dujiaohuang	湖北应山黑芝麻 Hubei yingshan black sesame
发芽势 Germination potential	0.76*	0.91**	0.87*	0.87*
发芽率 Germination rate	0.97**	0.93**	0.90**	0.89**
发芽指数 Germination index	0.87*	0.93**	0.88**	0.93**
活力指数 Vigor index	0.86*	0.93**	0.89**	0.88**
电导率 Electrical conductivity	-0.95**	-0.97**	-0.84*	0.09
MDA 含量 MDA content	-0.83*	-0.97**	-0.83*	-0.80*
POD 活性 POD activity	0.67*	0.97**	0.93**	0.75*
TTC 还原量 TTC reductive amounts	0.80*	0.88**	0.78*	0.97**

注: * . 代表 0.05 显著水平; ** . 代表 0.01 显著水平。表 3 同。

Note: * . Indicates 0.05 significance level; ** . Indicates 0.01 significance level. The same as Tab. 3.

从图 3 可以看出 随着老化处理时间的增加 不同类型芝麻种子 POD 活性呈逐渐降低趋势。处理 96 h 时 湖北独角黄和湖北应山黑芝麻的 POD 活性急剧下降, 下降速度明显高于临颖王孟白芝麻和與芝 2018。经过 120 h 的人工加速老化处理后 湖北应山黑芝麻的 POD 活性比 CK 降低最多, 为 49.81% 其次是與芝 2018 和湖北独角黄, 分别为 44.14% 和 38.60% , 降低最少的是临颖王孟白芝麻, 为 28.78%。

从图 4 可以看出 不同类型芝麻品种 TTC 还原量随人工老化处理时间的延长而降低 处理 96 h 芝麻种子的 TTC 还原量急剧下降。经过 120 h 的人工加速老化处理后 與芝 2018 和临颖王孟白芝麻的 TTC 还原量比 CK 降低较大, 分别为 80.82% 和 77.86%; 湖北独角黄和湖北应山黑芝麻的 TTC 还原量比 CK 降低较少, 分别为 38.83% 和 39.29%。

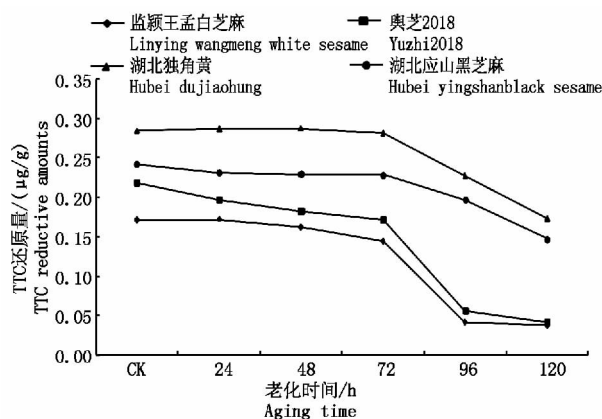


图4 不同老化处理对芝麻种子 TTC 还原量的影响

Fig. 4 Effect of different aging time on TTC
reductive amounts of sesame seed

2.3 芝麻种子各项指标与模拟田间出苗率之间的相关分析

为了筛选出最适的种子活力测定方法,对不同类型芝麻的各项指标与模拟田间出苗率之间的相关关系进行分析。从表 2 可以看出,不同类型芝麻种子的发芽率均与模拟田间出苗率呈极显著正相关。单秆型白芝麻与 2018 模拟田间出苗率与电导率呈极显著负相关,与 MDA 含量呈显著负相关,与其他指标均呈显著正相关。分枝型白芝麻临颖王孟白芝麻模拟田间出苗率与电导率和 MDA 含量呈极显著负相关,与其他指标均呈极显著正相关。单秆型黑芝麻湖北独角黄模拟田间出苗率与发芽指数、活力指数和 POD 活性呈极显著正相关,与发芽势和 TTC 还原量呈显著正相关,与电导率和 MDA 含量呈

显著负相关。分枝型黑芝麻湖北应山黑芝麻模拟田间出苗率与发芽指数、活力指数和 TTC 还原量呈极显著正相关,与发芽势和 POD 活性呈显著正相关,与 MDA 含量呈显著负相关,而与电导率的相关性不显著。

2.4 芝麻人工老化适宜处理时间分析

为了筛选出最适的芝麻人工老化处理时间,对不同老化处理时间种子发芽率与模拟田间出苗率进行相关分析。从表 3 可以看出,人工老化处理 72 h 的发芽率与模拟田间出苗率之间的相关系数最大,且达到极显著正相关水平,相关系数为 0.94;其他老化处理时间的发芽率与模拟田间出苗率之间的相关系数均未达到显著水平。可见,72 h 是芝麻人工老化种子活力测定的最适宜处理时间。

表 3 不同老化处理时间种子发芽率与模拟田间出苗率之间的相关系数

Tab. 3 Correlation analysis the rate of emergence between the artificial aging and the simulated field

老化时间/h Aging time	24	48	72	96	120
相关系数 Correlation coefficient	-0.69	0.77	0.94**	0.63	0.63

3 结论与讨论

种子贮藏过程中各项活力逐渐降低,即种子的老化。老化不仅影响种子萌发与幼苗的生长,也会影响到后期植株的产量与品质^[13]。必须定期对种质资源库中保存的种子进行种子活力测定,实时监测种子活力动态。因此,研究不同类型芝麻种子活力适宜检测方法对于芝麻种质资源的保存和种子生产十分必要。

本研究结果表明,芝麻种子老化过程中,标准发芽试验的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均呈下降趋势,TTC 还原量和 POD 活性随人工老化处理时间的延长而降低,MDA 含量随人工老化处理时间的延长而增加。TTC 还原量降低,表明种子人工老化过程中脱氢酶活性降低,种子内基本代谢受到破坏,同时人工老化影响膜系统,导致膜上 POD 酶活性的降低,清除自由基及过氧化物的能力减弱,自由基不断积累,过氧化作用的最终产物 MDA 增加,膜质过氧化作用加剧,从而导致种子活力下降。这与周小梅等^[4]、赵雪梅等^[5]对芝麻老化种子生理生化特性影响的研究结果一致。老化增大了种子细胞膜的渗透性,从而造成与代谢有关的各种物质的渗漏,导致种子浸提液电导率增大。赵雪梅等^[5]的研究结果表明,芝麻种子随着老化的加剧浸提液的电导率升高,但在本研究中,3 种类型的种子浸提液电导率与模拟田间出苗率呈显著或极显著负相关关系,另外 1 种类型的种子浸提液电导率与模拟田间出苗率相关性不显著。可见,电导率不是对任何类型的

芝麻种子都能反映其老化程度。

老化时间和温度对种子发芽率的下降起着重要的作用,但时间是主效应^[14]。本研究结果表明,芝麻在 42~43℃、100% RH 条件下,人工老化处理的最适时间为 72 h,与 Thant 等^[6]的研究结果不一致,这可能与材料间基因型差异较大有关。

以各项种子活力检测指标与模拟田间出苗率的相关关系达到极显著作为种子活力检测方法筛选的标准,各类型芝麻种子活力适宜检测方法为:发芽率和电导率可作为单秆型白芝麻种子活力检测的适宜方法;分枝型白芝麻种子活力检测的适宜方法是发芽率、电导率、MDA 含量、POD 活性和 TTC 还原量;单秆型黑芝麻种子活力检测的适宜方法是标准发芽率和 POD 活性;分枝型黑芝麻种子活力检测的适宜方法是标准发芽率和 TTC 还原量。本研究证实不同类型的芝麻由于其基因型的不同,其活力检测适宜的方法也是不同的。在实际种子活力检测工作中,应该针对不同类型的芝麻采取不同的活力检测方法。另外,本试验筛选到的种子活力检测方法在检测时对种子进行了破坏性处理,不利于珍贵种质资源的保护,因此,应加快在无破损检测种子活力技术上的探讨^[15]。

参考文献:

- [1] Bedigian D, Harlan J R. Evidence for cultivation on sesame in the ancient world[J]. *Econom Bot*, 1986, 40: 137-154.
- [2] 甄志高, 段莹, 王晓林, 等. 芝麻种子超干贮藏研究[J]. *中国油料作物学报*, 2003, 25(1): 76-77.

- [3] 卢新雄,曹永生.作物种质资源保存现状与展望[J].中国农业科技导报 2001 3(3):43-47.
- [4] 周小梅,王自霞,乔燕祥,等.人工老化处理对芝麻种子生理生化特性的影响[J].中国油料作物学报, 2008 30(4):460-463.
- [5] 赵雪梅,李楠,乔燕祥,等.人工老化对2种芝麻种子生理特性的影响[J].农产品加工(学刊) 2011 8: 29-33.
- [6] Thant K H ,Duangpatra J ,Romkaew J. appropriate temperature and time for an accelerated aging vigor test in sesame(*Sesamum indicum* L.) seed [J]. Kasetsart J(Nat Sci) 2010 44: 10-16.
- [7] 杜清福,贾希海,律保春,等.不同类型玉米种子活力检测适宜方法的研究[J].玉米科学 2007 15(6):122-127.
- [8] 国际种子检验协会.国际种子检验规程[M].北京:农业出版社 1985:54-57.
- [9] Hong S ,Lee U ,Vierling E. *Arabidopsis* hot mutants define multiple functions required for acclimation to high temperatures [J]. Plant Physiology 2003 132(2):757-767.
- [10] 胡晋.对种子活力测定法-TTC 定量法的改进[J].种子 1986 51:71-72.
- [11] 黄学林,陈润政.种子生理实验手册[M].北京:农业出版社 1990.
- [12] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社 2000.
- [13] 刘明久,王铁固,陈士林,等.玉米种子人工老化过程中生理特性与种子活力的变化[J].核农学报 2008 , 22(4):510-513.
- [14] 韩亮亮,毛培胜.燕麦种子人工加速老化条件的筛选优化[J].种子 2007 26(11):31-34.
- [15] 李灵芝,陈叔平,卢新雄,等.非破坏性方法测定小麦种子活力研究[J].华北农学报 2002 17(2):75-81.