



汪源,吴超,刘光立. 温度对甘青铁线莲种子萌发及相关酶活性的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2022(4):64-67.

温度对甘青铁线莲种子萌发及相关酶活性的影响

汪源¹, 吴超², 刘光立²

(1. 成都农业科技职业学院 建筑园林分院, 四川 成都 611130; 2. 四川农业大学 风景园林学院, 四川 成都 611130)

摘要:为探究甘青铁线莲[*Clematis tangutica* (Maxim.) Korsh.]种子萌发的适宜温度和温度对其淀粉酶活性、过氧化物酶活性的影响机制。本文以甘青铁线莲种子为材料,测定种子萌发过程中不同温度下的萌发情况、淀粉酶活性和过氧化物酶活性。结果表明:甘青铁线莲种子对低温有一定的适应性,但最适的萌发温度区间为 20~25 ℃,温度过高或过低都会推迟萌发时间且降低种子的发芽势。低温对淀粉酶活性和过氧化物酶活性影响不大,达到峰值只是时间的差异。高温下淀粉酶活性持续上升,过氧化物酶活性虽然呈缓慢上升趋势但活性值明显偏低,抑制物质积累导致发芽率不高。培养温度为 25 ℃时,甘青铁线莲种子萌发率最高,为 76.6%。

关键词:甘青铁线莲;温度;淀粉酶;过氧化物酶

毛茛科铁线莲属植物为多年生草本或灌木,大多具有枝蔓多姿、花色丰富、花型多变等特质,具有较高的园林观赏价值,适合栽种于围栏、矮墙等处,既是较好的园林垂直绿化材料^[1],又能入药^[2],经济价值较高。铁线莲属植物广泛分布于世界各地,中国亦有较丰富的野生资源。有“藤本植物皇后”美誉的铁线莲属植物在国外作为成熟的园林材料广泛运用,而其在我国的应用却处于起步阶段。因此加大对野生铁线莲品种的培育优选和国外优良园艺品种引种驯化,选育出适合本土栽培、品种性状表现良好的优良品种,是改变铁线莲在我国园林应用较少等现貌的有效途径。国内外对铁线莲属植物的研究主要集中于种质资源调查^[3]和药理成分研究^[4],而在引种驯化、繁殖等方面的研究甚少。

种子萌发是植物生长的开端,而适当的温度是植物生长发育的必要条件,也是种子萌发的主要因素^[5]。种子萌发期是一个植物种群能否定植的关键时期,摸清种子萌发的适宜温度对指导苗木生产实践具有重要意义。不同植物的种子在不同温度下的萌发行为及对温度的反应存在较大差

异^[6]。温度对植物种子萌发的影响已受到学术界的广泛关注。酶的活性及物质代谢的正常进行是种子顺利发芽最重要的生理保证^[7]。淀粉酶在种子萌发时可以将淀粉水解为小分子的糖类物质,为种子萌发提供营养及能量,因此淀粉酶活性的强弱与各类作物种子萌发速率及其随后的生长发育有密切关系^[8]。过氧化物酶作为植物体细胞生长和发育重要的生理生化指标,同时也是萌发的关键因素^[9]。前人的研究表明甘青铁线莲在 10 ℃以上有较高的发芽率^[10],但是并没有探讨甘青铁线莲的最适萌发温度以及种子在萌发过程中淀粉酶和过氧化物酶等生理指标的变化规律。因此,本试验通过控制甘青铁线莲种子萌发过程中的温度,测定其在不同温度下的发芽率以及萌发阶段淀粉酶活性和过氧化物酶活性,以期探求甘青铁线莲萌发的适宜温度和温度对淀粉酶活性、过氧化物酶活性的影响机制,为后续品种的引种、繁殖和选育工作提供试验依据与技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的甘青铁线莲种子 2018 年 10 月采自康定新都桥附近海拔 3 600 m 的山上,将种子充分混匀,风干,保存在 4 ℃冰箱中储藏备用。

1.2 方法

1.2.1 种子处理方法 取 50 粒种子放置于铺有 3 层蒸馏水湿润的滤纸、直径为 10 cm 的培养皿

收稿日期:2021-12-10

第一作者:汪源(1977—),女,硕士,副教授,从事园林植物应用相关研究。E-mail:18135678@qq.com。

通信作者:刘光立(1976—),男,博士,副教授,从事园林植物培育与应用研究。E-mail:liugl_1@163.com。

内,置于光照强度 4 000 lx,光照时间 12 h·d⁻¹,温度分别为 15,20,25 和 30 ℃ 的光照培养箱中进行催芽培养,3 次重复。每天观察时记录发芽种子数,并且添加适量蒸馏水于培养皿中,保证滤纸呈润湿状态,当连续 3 d 不再有新的种子萌发时则视为发芽结束。

取约 1 g 供试种子放置于铺有 3 层蒸馏水浸润滤纸、直径为 10 cm 的培养皿内,分别置于上述 4 个不同温度的光照培养箱中,自萌发第一天起,每隔 48 h 取培养中的种子或幼苗,测定种子或幼苗的淀粉酶活性和过氧化物酶活性,持续取样 4 次,3 个重复。

1.2.2 测定项目及方法 种子萌发率统计:观察统计不同温度培养条件下甘青铁线莲种子的萌发情况,萌发的标准为种子胚根长至 1~2 mm。

种子发芽率(%)=(发芽种子总数/供试种子总数)×100

种子发芽势(%)=(规定时间内发芽种子粒数/供试种子总数)×100

采用 3,5-二硝基水杨酸法测定淀粉酶活性^[11]。

采用愈创木酚显色法测定过氧化物酶(POD)活性^[12]。

1.2.3 数据分析 采用 Excel 2010 进行数据计算和作图;采用 SPSS 22.0 统计软件进行方差分析,采用最小显著差数法($P<0.05$,LSD)进行不同处理间均值的显著性差异比较。

2 结果与分析

2.1 温度对种子萌发的影响

由表 1 所示,不同的试验温度对甘青铁线莲种子的萌芽开始和结束时间影响不大,而对种子的发芽率和发芽势有较大的影响。在不同的培养温度下,发芽率由高到低分别是 25 ℃>15 ℃>20 ℃>30 ℃,且 15,20 和 25 ℃ 时的发芽率差异不显著,但却显著高于 30 ℃ 时的发芽率($P<0.05$);发芽势由高到低分别是 25 ℃>20 ℃>15 ℃>30 ℃,25 ℃ 时的发芽势显著高于 15 和 30 ℃ 时的发芽势($P<0.05$)。培养温度为 25 ℃ 时,种子发芽率和发芽势均为最高。

表 1 温度对甘青铁线莲种子发芽率和发芽势的影响

温度/℃	萌芽开始 时间/d	萌芽结束 时间/d	发芽率/%	发芽势/%
15	6	12	72.0±3.3 a	54.1±4.2 b
20	5	10	69.4±3.4 a	67.4±2.8 a
25	5	10	76.6±3.4 a	74.8±4.6 a
30	6	13	46.0±5.9 b	22.2±7.9 c

注:不同字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。发芽势为第 8 天发芽势。

2.2 温度对淀粉酶活性的影响

如图 1 所示,当发芽温度为 15 ℃ 时,甘青铁线莲淀粉酶活性先升后降,在发芽第 7 天达到最大值。当发芽温度为 20 和 25 ℃ 时,甘青铁线莲的淀粉酶活性从发芽第 5 天开始逐渐下降,且趋势相似,在观测期并未发现上升趋势。当温度为 30 ℃ 时,淀粉酶活性一直呈升高状态,观测期内暂时未出现下降趋势。

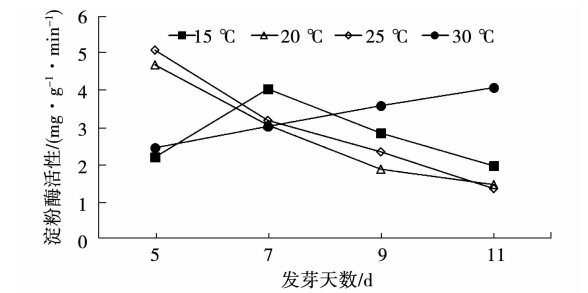


图 1 不同温度下淀粉酶活性随时间变化趋势

2.3 温度对过氧化物酶活性的影响

如图 2 所示,4 种温度情况下 POD 活性都随着时间逐渐升高。当温度为 15 ℃ 时,第 5 天到第 7 天 POD 活性出现较明显增幅,后期逐渐平缓,最后达到的酶活性与 20 和 25 ℃ 时差别不大。当温度为 20,25 和 30 ℃ 时,POD 活性缓慢上升,20 和 25 ℃ 时 POD 活性一开始就很高,而 30 ℃ 时的活性值始终偏低。

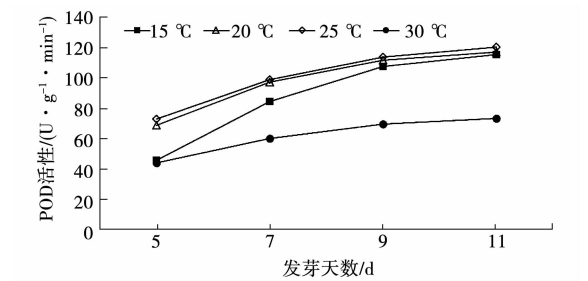


图 2 不同温度下过氧化物酶活性随时间变化趋势

3 讨论

种子的萌发与培养环境密切相关,温度是决定种子萌发的关键因素^[13]。随着温度的升高,种子萌发过程中的代谢反应会愈加活跃,但超过一定的温度范围,代谢活动就会有所减慢^[14-15]。当培养温度为 15、20 和 25 ℃ 时,甘青铁线莲种子发芽率都在 70% 左右,说明其有较宽的萌发温幅;且发芽率较高,这与屈博等^[10]的研究结果相似。当培养温度为 30 ℃ 时发芽率为 46% 左右,与其他温度有显著差异,并伴有霉烂现象,说明高于这一温度,不适合甘青铁线莲种子萌发,种子易失活。牛红彬等^[16]研究温度对毛茛铁线莲种子萌发也得到了相似的结果,这可能是甘青铁线莲对高原低温环境的一种适应,较高的萌发温度打乱其种子的萌发生长规律。在温度为 15 ℃ 时种子发芽比温度 20 和 25 ℃ 时晚,发芽势相对较低,也较晚达到发芽率上限,说明最适合的萌发温度区间为 20~25 ℃,吴红等^[17]在对棉团铁线莲的萌发温度进行研究时也有同样结果。

淀粉是种子的主要组成成分,种子在萌发过程中水解淀粉和脂肪,为种子提供主要的能量和碳^[18-19]。在甘青铁线莲种子萌发过程中,温度较低时(15 ℃),淀粉酶活性达到峰值的时间相对温度适宜时(20 和 25 ℃)推迟 1 d 左右,这可能是由于温度较低会影响酶活性。而酶活性在发芽以后呈明显下降趋势,说明在萌发前期淀粉酶发挥了至关重要的作用,促进种子内部大量淀粉转化为简单营养物质,为种子的顺利萌发提供条件^[20]。淀粉酶活性的高低直接影响物质和能量的代谢活动^[21]。在发芽后期种子内部淀粉含量减少,淀粉酶也随之减少,芽开始有了光合作用,种子从异养转变为自养^[22]。这种萌发前期淀粉酶活性不断上升,萌发后期不断被消耗的情况,是高海拔地区种子的生殖投资策略,使其可以应对苛刻环境,有机会选择繁殖的适宜时机^[23]。当温度过高时(30 ℃),甘青铁线莲种子中的淀粉酶活性持续升高,在观测时间内暂未出现下降趋势,可能是种子内部对糖的需求大于其他温度下需求,因而产生了大量淀粉酶^[24],具体原因需进一步探讨。

PP 途径假说认为过氧化物酶是一类与种子

休眠有关的酶,它可以使 NADPH 氧化为 NADP⁺,从而促进 PPP 途径运转,促进休眠种子萌发,在休眠与萌发的生理过程中起着极其重要的生理作用^[25]。15 ℃ 时过氧化物酶活性在发芽速率快时增加幅度较大,在发芽速率慢时逐渐平缓,王金侠^[26]对 4 种铁线莲属植物种子发芽特性的研究也得到同样结果,说明过氧化物酶关键活跃时期在种子萌发初期,是植物种子内部体细胞发育和生长的重要生理生化标志^[27]。而 20 和 25 ℃ 的培养温度下,过氧化物酶的活性一开始就很高,并随着发芽进程不断增加,所以在这 2 个培养温度下甘青铁线莲种子的发芽率和发芽势都比较高。当温度为 30 ℃ 时过氧化物酶活性呈缓慢升高的趋势,但相对其他温度较低,可能是温度引起萌发抑制物积累,导致种子内部脂化作用缓慢,组织防御机能下降,导致种子萌发困难^[28]。本研究 4 种温度条件下,随着呼吸作用增强,过氧化物酶活性都呈上升趋势,与李敏^[29]的结果相似,说明除活性氧代谢外,POD 还参与其他功能。

4 结论

综上所述,在甘青铁线莲种子萌发过程中,要给予适宜的温度。当培养温度为 25 ℃ 时,甘青铁线莲种子萌发率最高,为 76.6%。25 ℃ 培养温度下,甘青铁线莲萌发第 5 天淀粉酶活性最高,之后迅速下降,萌发第 11 天时最低。POD 在萌发第 5 天最低,之后逐渐升高。

参考文献:

- [1] 温韦华,刘淳洋,施文彬,等. 5 种铁线莲种子萌发特性的研究[J]. 种子,2017,36(10):37-41.
- [2] 铁线莲[J]. 中学生物学,2018,34(8):4.
- [3] 钱仁卷,郑坚,胡青荻,等. 中国铁线莲属观赏种质资源研究进展[J]. 中国农学通报,2017,33(21):75-81.
- [4] 李杨,张伟,赫雪峰,等. 铁线莲属植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药,2018,49(3):355-362.
- [5] 田宏,王志勇,张鹤山,等. 温度对胡枝子属植物种子萌发特性的影响[J]. 中国草地学报,2017,39(3):109-114.
- [6] 黄迎,曹哲,罗小燕,等. 光照和温度对猪屎豆属 6 种植物种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 热带农业科学,2019,39(11):26-34.
- [7] 宋亮,潘开文,王进闯. 化感活性物质影响种子萌发作用机理的研究进展[J]. 世界科技研究与发展,2006(4):52-57.
- [8] 罗珊,康玉凡,夏祖灵. 种子萌发及幼苗生长的调节效应研究进展[J]. 中国农学通报,2009,25(2):28-32.

- [9] 张蕙心,司龙亭,唐慧珣. 黄瓜种子萌发中淀粉酶、脂肪酶和过氧化物酶活性变化[J]. 沈阳农业大学学报,2014,45(1):83-86.
- [10] 屈博,范宝强,王思源,等. 不同海拔甘青铁线莲种子的萌发特性研究[J]. 农艺农技,2017(5):85-88.
- [11] 王秀奇,秦淑媛,高天慧,等. 基础生物化学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1999.
- [12] 王伟玲,王展,王晶英,等. 过氧化物酶活性测定方法优化[J]. 实验室研究与索,2010,29(4):21-23.
- [13] 陈燕,温韦华,李晓东,等. 温度处理对 11 种忍冬属植物种子萌发特性的影响[J]. 种子,2019,38(5):57-59,63.
- [14] 顾小琳,齐瑞妍,孙闯. 兴安杜鹃种子萌发特性研究[J]. 北方园艺,2019(17):77-83.
- [15] 孙坤,唐洁涓,苏雪,等. 青藏高原特有植物肋果沙棘种子萌发对不同温度的响应[J]. 西北师范大学学报,2009,45(3):83-86.
- [16] 牛红彬,关文灵,李世峰,等. 光照和温度对毛茛铁线莲种子萌发的影响[J]. 亚热带植物科学,2013,42(1):43-45,52.
- [17] 吴红,韦庆翠,刘行,等. 棉团铁线莲种子吸水特性及萌发温度的研究[J]. 种子,2018,37(10):98-101.
- [18] 丁燕,呼凤兰,畅博奇. NaCl 胁迫对玉米种子萌发特性及 α -淀粉酶活性的影响[J]. 黑龙江农业科学,2019(4):11-14.
- [19] 张影,张跃华,缪天琳,等. 低温处理对缙草种子萌发与生理活性的影响[J]. 中国林副特产,2019(4):14-16.
- [20] 涂峰,万俊鹏,胡永清,等. 赛山梅种子萌发期生理生化特性研究[J]. 安徽农业科学,2018,46(17):108-110.
- [21] 金莉,吕剑,郁继华,等. 外源硅对连作基质浸提液抑制黄瓜种子萌发的缓解效应[J]. 西北植物学报,2019,39(9):1600-1608.
- [22] 张蕙心,司龙亭,唐慧珣,等. 黄瓜种子萌发中淀粉酶、脂肪酶和过氧化物酶活性变化[J]. 沈阳农业大学学报,2014,45(1):83-86.
- [23] 廖景盛,韩宗先,陈今朝,等. 杂交稻种子萌发过程中淀粉酶活性的变化[J]. 安徽农业科学,2008,36(33):14415-14416.
- [24] 廖捷敏,覃丽娜,彭瀚,等. 不同温度对全缘叶绿绒蒿种子萌发及抗氧化酶活性的影响[J]. 贵州农业科学,2016,44(6):14-17.
- [25] 程波翔,钟国跃,谢欢,等. 不同温度下穿心莲种子萌发的生理生化特性研究[J]. 湖北农业科学,2016,55(19):5083-5086.
- [26] 王金侠. 4 种铁线莲属植物种子发芽特性及其幼苗抗旱性的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2014.
- [27] 孙蕾,张春辉,吕俊平,等. 光照强度对青藏高原东缘九种紫草科植物种子萌发的影响[J]. 兰州大学学报,2011,47(5):67-72.
- [28] 孙晓梅,王思思,杨宏光,等. 芍药种子萌发过程中抗氧化酶活性变化规律研究[J]. 北方园艺,2015,14:53-55.
- [29] 李敏. GA₃对芍药种子生根过程中酶变化影响的研究[J]. 福建农业,2015(4):103-104.

Effects of Temperature on Seed Germination and Related Enzyme Activities of *Clematis tangutica* (Maxim.) Korsh.

WANG Yuan¹, WU Chao², LIU Guang-li²

(1. Architecture and Garden Branch, Chengdu Agricultural Science and Technology Vocational College, Chengdu Sichuan 611130, China; 2. College of Landscape Architecture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: In order to explore the effect of suitable temperature and temperature on amylase activity and peroxidase activity of *Clematis tangutica* (Maxim.) Korsh. The germination, amylase activity and peroxidase activity of *Clematis kansuensis* seeds at different temperatures were determined. The result showed that: *Clematis kansuensis* seeds had a certain adaptability to low temperature, but the optimal germination temperature was 20-25 °C. The germination time was delayed and the germination potential was decreased when the temperature was too high or too low. Low temperature had little effect on the activity of amylase and peroxidase, and the time to reach the peak value was only the difference of time. Under high temperature, the activity of amylase continued to rise. Although the activity of peroxidase increased slowly, the activity value was obviously low, and the germination rate was not high due to the accumulation of inhibitory substances. The highest germination rate was observed at 25 °C, which was 76.6%.

Keywords: *Clematis kansuensis*; temperature; amylase; peroxidase