

# 黑麦草老化处理后种子活力和生理生化特性的变化

李淑梅,王付娟,董丽平,孙君艳,仝胜利

(信阳农林学院 农业科学系,河南 信阳 464000)

**摘要:**为延长黑麦草的种子寿命及其安全贮藏,以黑麦草邦德为试验材料,采用 45℃,90%相对湿度的条件进行人工老化处理,并对其种子发芽指标、相对电导率、丙二醛含量、可溶性糖、可溶性蛋白、POD 和 CAT 活性等生理生化指标进行了测定。结果表明:相对电导率、可溶性糖和丙二醛含量等随着老化时间的延长逐渐升高,可溶性蛋白、POD 和 CAT 活性等逐渐降低,表明黑麦草种子耐贮藏的适宜老化时间为 3 d。通过研究可知,在大麦种子的老化过程中,相对电导率、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、POD 和 CAT 活性均与种子的老化及劣变密切相关,可据此检测种子活力。

**关键词:**黑麦草;人工老化;发芽指标;生理生化指标

**中图分类号:**S543.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)01-0133-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.01.0133

邦德黑麦草是新一代的宽叶型四倍体一年生禾本科牧草,叶片宽大,鲜嫩多汁,糖分含量高。在我国南北方利用冬闲农田等水肥条件较好的地方种植。其富含蛋白质、矿物质和维生素,既可做各种畜禽和鱼类饲料,又能培肥地力,促进后茬作物生长。

种子老化不但影响种子萌发和幼苗生长,也会影响植株后期生长及产量和品质,因此,种子老化及其调控一直受到广泛关注。在研究种子老化时,通常采用人工加速老化的方法。该研究通过黑麦草种子进行高温高湿的人工加速老化后的发芽指标和生理指标的变化情况,为延长黑麦草的种子寿命并为种子安全贮藏提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

所用黑麦草品种为邦德,购自种子市场。

### 1.2 方法

1.2.1 试验设计 挑选大小一致的黑麦草种子,置于人工老化箱中进行高温(43℃)、高湿(相对湿度为 90%)人工老化处理,本试验共设置 8 个处理,即 0、1、2、3、4、5、6 和 7 d。处理完毕后,将种子于室温条件下晾干备用。随后进行发芽指标、种子活力、丙二醛含量、可溶性糖含量和 POD 及 CAT 含量的测定。

1.2.2 测定项目及方法 发芽指标测定:从老化

后晾干的黑麦草种子中随机数取 3 份种子,每份 50 粒,均匀摆放在有湿润滤纸的 15 cm 培养皿中,置于 20℃光照恒温培养箱中进行发芽试验,每天记录发芽种子数,第 4 天统计发芽率,第 8 天统计发芽势,然后测定全部发芽种子的苗长(cm),计算发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数等。

采用浸提法测定电导率<sup>[1]</sup>,取两份黑麦草种子,每份 50 粒,分别称重、记录;用去离子水清洗种子并吸干表面水分,放入对应编号的烧杯中,加入 30 mL 去离子水,用纸封口,在室温下浸泡 24 h 后测定电导率。

采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MAD)含量<sup>[2]</sup>;采用蒽酮法测定植物组织中可溶性糖的含量<sup>[3]</sup>;采用考马斯亮蓝(G-250)法测可溶性蛋白质含量<sup>[4]</sup>;采用愈创木酚法测过氧化物酶(POD)活性;采用过氧化氢法测定过氧化氢酶(CAT)活性<sup>[5]</sup>,每个处理设置 3 个重复。

1.2.3 数据分析与处理 用 EXCEL 和 SAS 软件进行试验数据的统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同时间的人工老化处理对黑麦草种子发芽特性的影响

由表 1 可以看出,随着老化处理时间的延长,种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数等均呈现逐渐下降的趋势,尤其是种子的发芽势下降非常显著。处理 7 d 的种子发芽势为对照的 39%,发芽率为对照的 71%。

### 2.2 不同时间的人工老化处理对黑麦草种子电导率的影响

图 1 表明黑麦草种子的电导率随着老化处理

收稿日期:2014-08-25

基金项目:信阳农林学院青年教师科研基金资助项目(2012 01009)

第一作者简介:李淑梅(1979-),女,河北省衡水市人,硕士,讲师,从事种子检验及作物遗传育种方面的教学和科研工作。E-mail:lishumei79@163.com。

时间的延长逐渐增高,其中处理前 3 d 相对电导率增加较慢,处理 4 d 后增加迅速,到第 7 d 时相对电导率高达对照的 3.6 倍,表明老化处理时间越长,黑麦草种子细胞膜的完整性破坏越严重,种子活力越低。

表 1 不同时间的老化处理对种子发芽特性的影响  
Table 1 Effect of different aging time on germination characteristics

处理时间/d Treatment time	发芽势/% Germination energy	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
0	76.00 a	96.67 a	29.82 a	1.18 a
1	75.33 a	98.67 a	29.94 a	1.17 a
2	68.67 ab	94.00 a	27.32 b	0.96 b
3	65.33 b	93.33 a	25.72 b	0.72 c
4	50.00 c	82.67 b	23.73 c	0.70 c
5	37.33 d	79.33 b	22.28 cd	0.62 c
6	36.00 d	72.00 c	20.51 de	0.53 c
7	30.00 d	68.67 c	19.40 e	0.52 c

同列中不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。  
Different lowercases in same column mean significant difference at 0.05 level.

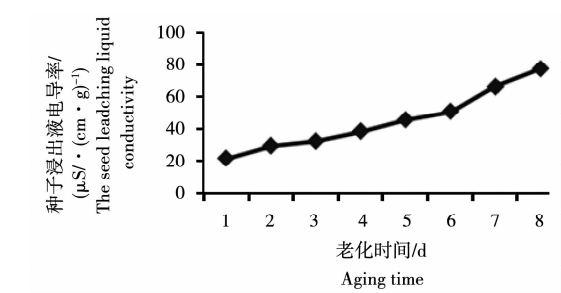


图 1 人工老化处理对黑麦草电导率的影响  
Fig. 1 The effect of artificial aging treatment on the conductivity of perennial ryegrass

2.3 不同时间的人工老化处理对黑麦草种子丙二醛含量的影响

通常,在逆境环境条件下,植物细胞经常会发生不同程度的膜脂过氧化,丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的最终分解产物,其对植物细胞具有明显的毒害作用,所以,MDA 含量是种子老化的重要指标,MDA 含量越低,膜受损的程度越小,反之,膜受损程度越大。

由图 2 可以看出,随着人工老化处理时间的延长,黑麦草的 MDA 含量呈现先升后降的变化趋势,在第 4 天达到峰值,为对照的 2.22 倍。随后开始下降,但是均高于对照。说明人工老化处

理已经对黑麦草种子的正常生理功能产生了严重的影响。

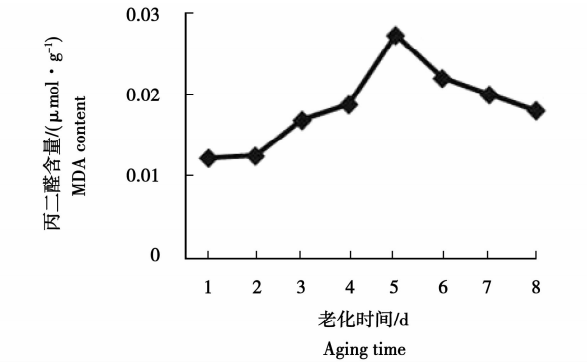


图 2 人工老化处理对黑麦草 MDA 含量的影响  
Fig. 2 Effect of artificial aging on MDA content of ryegrass

2.4 不同时间的人工老化处理对黑麦草种子可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

由图 3 可看出,黑麦草种子的可溶性糖含量随着老化处理时间的延长逐渐升高,且处理时间越长,可溶性糖含量越高,老化 1 和 2 d 种子可溶性糖含量变化不大,从第 3 天开始,含量逐渐增加,且到第 7 天时可溶性糖含量达到了最大值,为对照的 4.2 倍。种子老化程度加剧,外渗量显著增加,表明种子活力下降与膜的透性有关,导致了可溶性糖含量的增加。

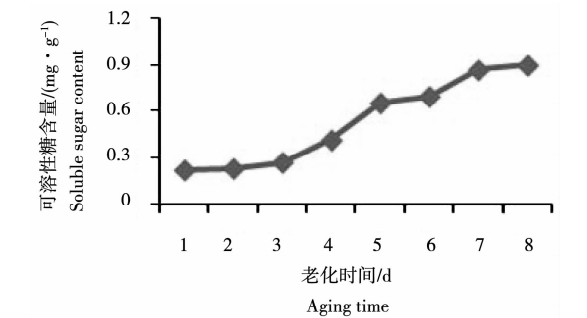


图 3 人工老化处理对黑麦草可溶性糖含量的影响  
Fig. 3 Effect of artificial aging on the soluble sugar content of ryegrass

图 4 表明,老化处理时间越长,黑麦草种子的可溶性蛋白含量越低,这与种子发芽指标和出苗指标趋势一致,在老化处理 7 d 时可溶性蛋白含量降为对照的 32%。

2.5 不同时间的人工老化处理对黑麦草种子 POD 和 CAT 含量的影响

图 5 表明,POD 和 CAT 的活性均随着老化处理时间的延长逐渐降低,且 POD 下降速度更快,在老化 7 d 时,种子的 POD 和 CAT 含量分别降低至对照的 36%和 53%。在老化过程中,尤其

是老化后期,POD 和 CAT 等抗氧化酶活性同时下降,种子对过氧化氢消除能力降低,从而引起过氧化氢中毒。

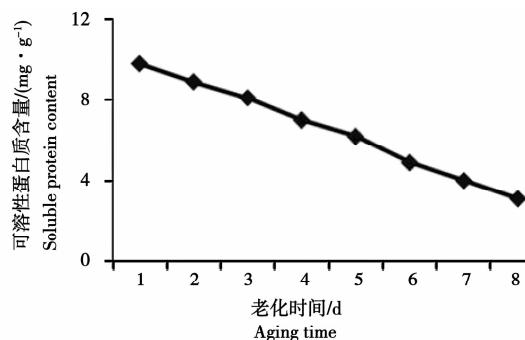


图4 人工老化处理对黑麦草可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4 The effect of artificial aging treatment on the soluble protein content of ryegrass

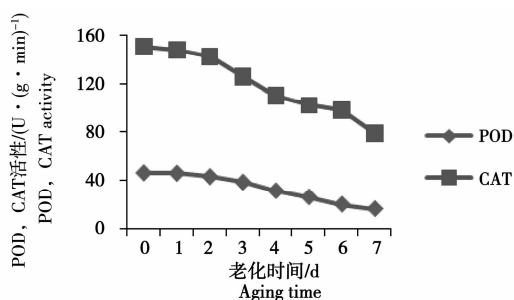


图5 人工老化处理对黑麦草 POD、CAT 含量的影响

Fig. 5 The effect of artificial aging treatment on POD, CAT content of ryegrass

### 3 结论与讨论

种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数是评价种子活力变化的常用指标<sup>[6]</sup>。研究表明,黑麦草种子的发芽率和发芽势等随着老化程度的加深迅速降低,其中发芽势下降速度较快,在老化处理 3 d 后与对照差异显著,而发芽率在老化处理 4 d 后才与对照表现出显著差异,由此表明老化已经对黑麦草的活力产生了较大影响。

研究发现,黑麦草种子的电导率随着老化处理时间的延长逐渐增大,表明老化已经对细胞膜系统造成了严重的损害,这与电导率是种子细胞膜系统完整与否的重要指标的结论相一致。

MDA 是膜脂氧化的最终分解产物,对植物细胞具有明显的毒害作用,所以,MDA 含量是种子老化的重要指标,MDA 含量越低,膜受损的程度越小,反之,膜受损程度越大。本研究结果可知,MDA 含量呈现先升后降的变化趋势,在老化处理第 4 d 达到峰值,随后虽然有所降低,但仍然比对照高出很多,表明种子的正常生理机能已经

严重受损。

大量研究结果表明,种子老化从膜的受损开始,膜损伤反映到膜透性的增强,表现为电解质和代谢物渗透量的增加,其中包括无机离子、糖、蛋白质和氨基酸等,同时还有特定的气体释放,致使种子细胞渗透液的导电性增强<sup>[7]</sup>。本试验中,黑麦草种子的含糖量随着老化时间的延长逐渐增大,可能是老化加深导致细胞膜结构透性增大造成的。可溶性蛋白的变化趋势与可溶性糖相反,可能是由于过氧化作用使种子内的溶酶体受到破坏,从而加强了贮藏物质的降解速度<sup>[8]</sup>,这也与 Neelesh 等<sup>[9]</sup>和 Du 等<sup>[10]</sup>的研究结果相一致。

人工老化影响种子膜系统必然影响膜上酶的活性,从而影响到种子内部的代谢过程<sup>[11]</sup>。黑麦草种子老化处理后 POD、CAT 活性降低,消除自由基及过氧化物的能力减弱,自由基的产生与消除的平衡被打破,自由基不断积累,攻击膜分子,引起过膜脂过氧化作用,形成并累积过量有机自由基,进一步加剧种子老化。

总之,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,有必要进行深入的研究,有助于缓解老化对种子劣变的影响,对种子的安全贮藏提供理论参考。

### 参考文献:

- [1] 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,2010,39(1):17-20.
- [2] 赵世杰,许成长.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通讯,1994,3(3):207-21.
- [3] 艾希珍,于贤昌.低温胁迫下黄瓜嫁接苗与自根苗某些物质含量的变化[J].植物生理学通讯,1999,35(1):26-28.
- [4] 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.
- [5] 尹燕桦,董学会.种子学实验技术[M].北京:中国农业出版社,2007:23-24.
- [6] 颜启传.种子学[M].北京:中国农业出版社,2001:110-116,425-431.
- [7] 郑光华.种子生理研究[M].北京:科学出版社,2004:611-613.
- [8] CUI H W, WANG F. A study on the physiological and biochemical regularities during artificial aging of cucumber seeds[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Nature Science Edition, 1992, 1: 51-54.
- [9] Neelesh K, Arvind A, Mohd A S, et al. Physiological and biochemical change during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. American Journal of Plant Physiology, 2011, 6(1): 28-35.
- [10] Du H K, Sim H H, Jeong H S. Evaluation of the inorganic compound leakage and carbohydrates as indicator of physiological potential of *Ulmus parvifolia* seeds[J]. New Forests, 2011, 41: 3-11.
- [11] 孙青春,杨伟,戴忠良,等.人工老化处理对结球甘蓝种子生理生化特性的影响[J].西北植物学报,2012,32(8):1615-1620.