

郭坤元,何美军,林先明,等. NaCl 胁迫对黄精种子活性和生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(14):110-112.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.14.026

NaCl 胁迫对黄精种子活性和生理特性的影响

郭坤元, 何美军, 林先明, 郭汉玖

(湖北省农业科学院中药材研究所,湖北恩施 445000)

摘要:为了促进黄精种质资源的开发与利用,以黄精种子为研究对象,在不同浓度 NaCl 胁迫条件下,测定种子活力及各种生理指标。研究发现,随着处理时间的延长和处理浓度的升高,黄精种子的活力均呈现出降低的趋势,其中对照组和低浓度处理组降低幅度较低,高浓度处理组种子活力降低幅度较高;对照组和低浓度处理组丙二醛(MDA)的积累量较低,高浓度处理组积累量较高;低浓度 NaCl 胁迫会刺激黄精种子产生氧化酶类来保护其减少伤害,高浓度的 NaCl 胁迫严重破坏了种子的膜结构,导致种子内氧化酶类大量减少,种子活性降低;低浓度 NaCl 胁迫下可以提高黄精种子内可溶性糖的含量,以增强黄精种子对 NaCl 胁迫的抵抗能力,而高浓度 NaCl 胁迫损坏了黄精种子的膜脂和膜系统,影响种子活力。

关键词:黄精;NaCl 胁迫;种子活力;丙二醛;膜结构;可溶性糖

中图分类号: S567.23*9.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)14-0110-03

黄精(*Polygonatum sibiricum* Red.),又被称为老虎姜、鸡爪参等,为百合科黄精属多年生草本植物,可以药食两用^[1],根据《中国药典》记载,可以将其分为滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coll)、黄精(*Polygonatum sibiricum* Red)、多花黄精(*Polygonatum cyrtoneura* Hua)3类^[2]。在栽培种植方面,目前人们多利用黄精的地下根茎部分进行扩繁,但是无性繁殖有一个非常大的缺点,就是种植几代后,黄精的品质会越来越差,非常不利于其持续性栽培和大面积种植,因此,利用有性繁殖是今后黄精栽培种植的方向^[3]。同时植物种子在萌发生长过程中会遇到各种不利环境,如干旱、水涝、盐碱化等^[4],因此研究有关种子在逆境胁迫条件下的生理变化,萌发情况就显得尤为重要。目前为止,有关黄精种子在正常条件下含水量^[5]、休眠^[6]、萌发^[7]等方面的研究已被报道,但是有关黄精种子在逆境胁迫下生理萌发方面的研究还未发现。本试验旨在研究黄精种子在不同浓度的 NaCl 盐胁迫条件下,种子内部生理生化及活力的变化情况,希望通过这些研究结果为以后黄精种质资源的开发与利用提供前期研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验所用黄精种子于2015年11月采自湖北省恩施市新塘乡华中药用植物园实验基地。采收后的种子经过发酵、揉搓、去皮等处理。挑选籽粒饱满、无病虫害、无损坏的种子用于试验。

1.2 方法

收稿日期:2017-02-23

基金项目:湖北省技术创新专项(鄂西民族专项)(编号:2017AKB075);湖北省农业科学院青年基金(编号:2016NKYJJ32);湖北省恩施州科技计划研究与开发项目(编号:XYJ2016000305)。

作者简介:郭坤元(1986—),男,湖北宣恩人,博士,助理研究员,主要从事药用植物资源开发与利用研究。E-mail: guo - ky0210@163.com。

1.2.1 黄精种子的前期处理 根据国际种子检验规程,挑选饱满、无损坏、无病虫害的黄精种子,称质量后均匀的平铺在烘干盒里,在烘箱里烘干14 h以上直至种子质量恒定,冷却后待用。

1.2.2 黄精种子 NaCl 盐胁迫处理 选取30粒烘干至恒质量的黄精种子,进行消毒灭菌处理后,于25℃培养箱中分别在无菌蒸馏水以及浓度为100、125、150 mmol/L的NaCl溶液中12 h光照/12 h黑暗培养,随后分别测量培养2 d、1周、2周、3周后黄精种子的丙二醛(MDA)含量、过氧化氢酶(CAT)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、粗脂肪含量等生理指标。

1.2.3 黄精种子各生理指标测定 采用TTC染色法测定不同处理条件下黄精种子的活性情况^[8];利用TBA反应测定MDA的含量^[9];参照《植物生理学实验教程》测定过氧化物酶POD、过氧化氢酶CAT以及超氧化物歧化酶SOD的活性^[10];利用考马斯亮蓝法和索氏提取法分别测定可溶性蛋白质和粗脂肪的含量^[11];采用葱酮比色法测定可溶性糖的含量^[9]。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子活性的影响

种子活性是衡量种子质量标准的重要指标之一。由图1可知,随着处理时间的延长,4种条件下黄精种子的活性均呈现出降低的趋势,其中对照组蒸馏水处理的种子活性降低幅度较小,125、150 mmol/L NaCl 处理条件下的种子活性降低幅度较大,在处理30 d,对照组种子的活性仍然有60%左右,而试验组种子的活性则降低到25%左右。

2.2 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 MDA 含量的影响

MDA是种子氧化应激反应过程中的产物,影响着种子的质量^[12]。从图2可以看出,随着处理时间的延长,黄精种子的MDA含量均逐渐增加,随着处理浓度的升高,MDA的含量也逐渐升高,尤其是在150 mmol/L NaCl胁迫条件下,在处理

30 d 其 MDA 含量达到 1.6 nmol/g 左右,而对照组蒸馏水处理的 MDA 含量仅为 0.25 nmol/g 左右,表明高浓度的 NaCl 胁迫处理使种子积累了较多的 MDA,不利于种子的萌发和生长。

2.3 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 CAT 活性的影响

CAT 可清除种子在萌发过程中产生的大量过氧化氢,具有保护细胞的作用。从图 3 可以看出,随着处理时间的延长,

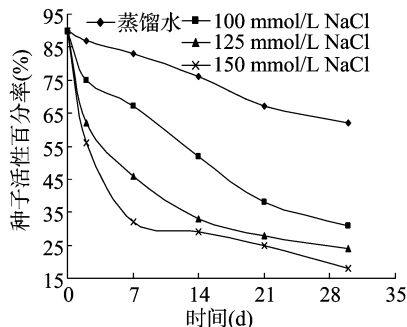


图1 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子活性的影响

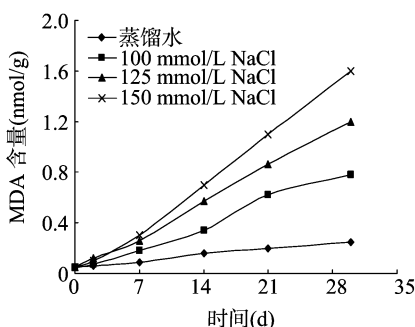


图2 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 MDA 含量的影响

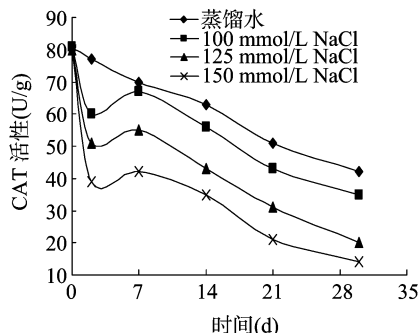


图3 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 CAT 活性的影响

2.4 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 SOD 活性的影响

超氧化物歧化酶与植物的逆境胁迫关系密切,它可以保护植物及其种子在不利环境中正常萌发及生长。由图 4 可知,不同处理条件下黄精种子的 SOD 活性大体上都呈现出下降的趋势,其中在 100 mmol/L NaCl 胁迫条件下,处理的 2 ~ 7 d 有先上升后下降的趋势,125、150 mmol/L NaCl 胁迫条件下,处理的第 2 周有上升趋势,随后下降。在处理 30 d 时,对照组蒸馏水的 SOD 活性最高,试验组 150 mmol/L NaCl 胁迫处理的最低。

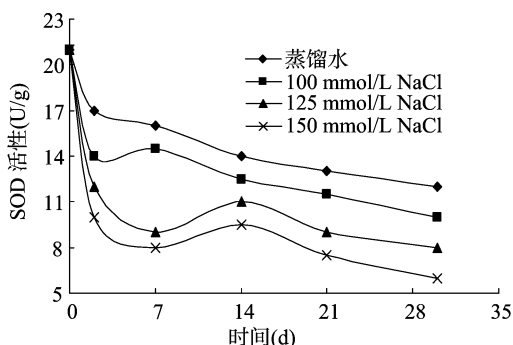


图4 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 SOD 活性的影响

2.5 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 POD 活性的影响

过氧化物酶具有很高的活性,同 CAT 一样可以有效清除细胞内的过氧化氢,起到保护植物细胞的作用。由图 5 可知,不同处理条件下的 POD 活性大致都经历了先降低后升高再降低的趋势,不同的是蒸馏水对照组 POD 活性降低和升高的幅度较小,而 NaCl 胁迫处理的变化幅度较大,其中在处理 2 ~ 14 d,3 种 NaCl 浓度条件下都呈现出升高的趋势,且在 14 d 时,100 mmol/L NaCl 胁迫下的 POD 活性超过对照组,达到 67 U/g 左右;在处理 30 d 时,对照组和 100 mmol/L NaCl 胁迫下的 POD 活性比较接近,而 125、150 mmol/L NaCl 胁迫下的 POD 活性降至 20 U/g 左右。

2.6 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子可溶性糖含量的影响

蒸馏水处理的对照组 CAT 活性呈现出比较规律的下降趋势,而 NaCl 处理的试验组中,CAT 活性在处理前 2 d 呈现出降低的趋势,在 2 ~ 7 d 内呈现出增加的趋势,随后又呈现出降低的趋势,NaCl 的浓度越高,CAT 的活性越低,在处理 30 d 时,对照组蒸馏水的 CAT 活性最高,试验组 150 mmol/L NaCl 胁迫处理的最低。

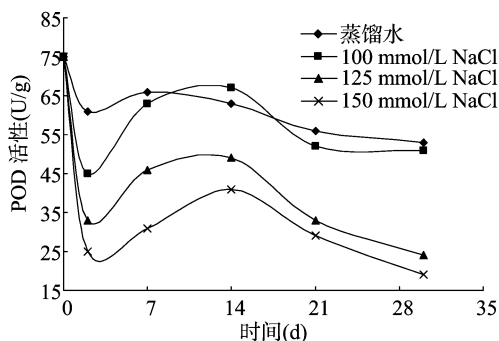


图5 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子 POD 活性的影响

来源,正确测量种子可溶性糖的含量有助于了解种子的萌发能力^[13]。由图 6 可知,在对照组和 100 mmol/L NaCl 胁迫组中,黄精种子可溶性糖含量先增加后降低,且 100 mmol/L NaCl 胁迫处理的可溶性糖含量高于对照组;在高浓度的 NaCl 胁迫组中,黄精种子可溶性糖的含量先降低后略微增加,随后又降低,表明低浓度的 NaCl 胁迫可以增加黄精种子的可溶性糖含量,同时增加的可溶性糖可以增强黄精种子对 NaCl 胁迫的抵抗能力,起到控制水分平衡、保水和防止水分流失的作用,而高浓度 NaCl 胁迫则损坏了黄精种子,使其可溶性糖含量降低。

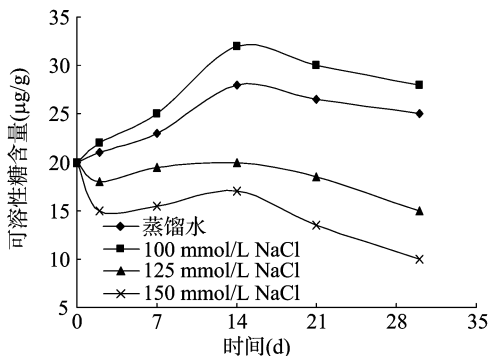


图6 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子可溶性糖含量的影响

可溶性糖是种子乃至整个植株生长过程中最主要的能量

2.7 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子可溶性蛋白质含量的影响

可溶性蛋白质既是种子能量物质之一,又是种子酶系统等物质的储存体,在种子活力和萌发等方面起着重要的作用^[14]。由图 7 可知,随着处理时间的延长和处理浓度的增加,黄精种子可溶性蛋白质含量均呈现下降的趋势,其中蒸馏水对照组下降的趋势较弱,而高浓度 NaCl 胁迫组下降的趋势比较明显,表明 NaCl 胁迫破坏了黄精种子蛋白质结构的稳定性,种子受到损伤,不利于生长和萌发。

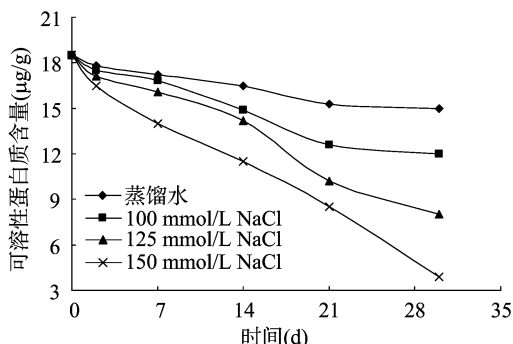


图7 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子可溶性蛋白质含量的影响

2.8 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子粗脂肪含量的影响

粗脂肪是种子重要的能源物质之一,可以在种子萌发时经特定脂肪酶的作用分解为分子量比较小的脂肪酸等物质,其中不饱和脂肪酸在不利条件下会被氧化成自由基,产生丙二醛损伤膜脂和膜系统,影响种子活力^[15]。由图 8 可知,随着处理时间的延长和处理浓度的增加,黄精种子粗脂肪含量均呈现下降的趋势,高浓度 NaCl 胁迫下降更为明显,可能是因为高浓度的 NaCl 胁迫严重破坏了种子的膜系统,从而导致种子活力下降。

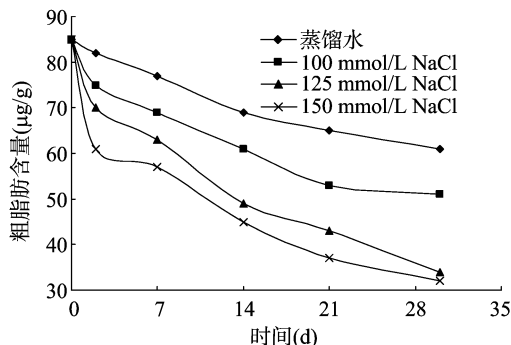


图8 不同浓度 NaCl 胁迫处理对黄精种子粗脂肪含量的影响

3 讨论与结论

本研究对黄精种子在不同浓度 NaCl 胁迫条件下种子活力及各种生理指标进行了测定,研究发现,随着处理时间的延长,4 种条件下黄精种子的活性均呈现出降低的趋势,其中对照组处理的种子活力降低幅度较小,而高浓度 NaCl 处理的种子活力降低幅度较大,在处理 30 d 时降低到原来 25% 左右,表明高浓度的盐胁迫不利于种子活力的保持^[16-17]。MDA 测定结果发现,随着处理时间的延长,高浓度 NaCl 处理下种子 MDA 的含量较高,在 30 d 时达到 1.6 nmol/g,研究认为高浓

度的 NaCl 胁迫可以导致种子积累较多的 MDA,不利于种子的萌发和生长,与林艳等的研究结论一致^[12,18]。POD、CAT 以及 SOD 的测定结果发现,低浓度的 NaCl 胁迫会刺激种子氧化酶类的产生,可保护其减少伤害,而高浓度的 NaCl 胁迫严重破坏了种子的膜结构,导致种子内氧化酶类大量减少,活性降低^[19]。可溶性糖、可溶性蛋白质、粗脂肪的含量测定结果发现,低浓度 NaCl 胁迫条件下,黄精种子内可溶性糖的含量会升高,升高的可溶性糖可以增强黄精种子对 NaCl 胁迫的抵抗能力,起到控制水分平衡和防止水分流失的作用,而高浓度 NaCl 胁迫损坏了黄精种子的膜脂和膜系统,影响种子活力^[15]。

参考文献:

- [1] 周建金,罗晓锋,叶 炜,等. 多花黄精种子繁殖技术的研究[J]. 种子,2013,32(1):111-113.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:287-288.
- [3] 王剑龙,常 晖,周仔莉,等. 黄精种子萌发过程发育解剖学研究[J]. 西北植物学报,2013,33(8):1584-1588.
- [4] Boyer J S. Plant productivity and environment[J]. Science,1982,218(4571):443-448.
- [5] 李吟平,程秋香,席鹏洲,等. 含水量对黄精种子贮藏生理的影响[J]. 种子,2016,35(5):18-22,26.
- [6] 张玉翠,李勇刚,王占红,等. 黄精种子休眠原因的研究[J]. 种子,2011,30(4):58-61.
- [7] 焦 劼,陈黎明,张巧媚,等. 黄精种子质量与外源生长调节物质 SNP、ETH 对种子萌芽的影响[J]. 时珍国医国药,2016,27(5):1211-1213.
- [8] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2006:190-192.
- [9] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:209-215.
- [10] 路文静,李奕松. 植物生理学实验教程[M]. 北京:中国林业出版社,2012:101-102.
- [11] 陈毓奎. 生物化学试验方法和技术[M]. 北京:科学出版社,2006:215-216.
- [12] 林 艳,郭伟珍,徐振华,等. 大叶女贞抗寒性及冬季叶片丙二醛和可溶性糖含量的变化[J]. 中国农学通报,2012,28(25):68-72.
- [13] 位 杰,吴翠云,蒋 媛,等. 萘酚法测定红枣可溶性糖含量条件的优化[J]. 食品科学,2014,35(24):136-140.
- [14] 方志红,董宽虎. NaCl 胁迫对碱蒿可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响[J]. 中国农学通报,2010,26(16):147-149.
- [15] 齐 宁,刘忠堂,韩玉章,等. 大豆种子脂肪蛋白质含量与萌发期耐冷性关系初探[J]. 中国油料,1990,5(3):39-41.
- [16] 王爱霞,方炎明. NaCl 胁迫对不同种源构树种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):257-261.
- [17] 张洁明,孙景宽,刘宝玉,等. 盐胁迫对荆条、白蜡、沙枣种子萌发的影响[J]. 植物研究,2006,26(5):595-599.
- [18] 范 晶,黄明远,徐雅霞. 盐胁迫对番茄种子萌发及叶片中丙二醛含量的影响[J]. 北方园艺,2011(10):27-29.
- [19] 朱金方,刘京涛,陆兆华,等. 盐胁迫对中国柞柳幼苗生理特性的影响[J]. 生态学报,2015,35(15):5140-5146.