

GA₃对老化花椰菜种子活力和几种相关生理生化性状的影响

朱世杨*, 张小玲, 罗天宽, 刘庆, 唐征, 陈海英

温州市农业科学研究院, 浙南作物育种重点实验室, 浙江温州 325006

摘要: 用 10、50、100、150 和 200 mg·L⁻¹ 5 种浓度赤霉素(GA₃)溶液处理于 10 °C 冰箱中贮藏 5 年的花椰菜老化种子。结果表明, 100 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种 22 h 的效果最佳, 老化种子的发芽率、发芽势、活力指数、根长均有提高, 畸形苗率下降; 过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和脱氢酶活性提高, 可溶性蛋白和叶绿素含量也提高, 种子浸出液的电导率和丙二醛(MDA)含量则下降。另外, 100 mg·L⁻¹ GA₃ 处理后的种子在温度为 25 °C 条件下贮藏时间不宜超过 25 d。

关键词: 花椰菜老化种子; 生理生化性状; 赤霉素处理; 种子活力

Effects of GA₃ on Seed Vigor and Several Physiological and Biochemical Characteristics of Cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) Aged Seeds

ZHU Shi-Yang*, ZHANG Xiao-Ling, LUO Tian-Kuan, LIU Qing, TANG Zheng, CHEN Hai-Ying

Key Laboratory of Crop Breeding in South Zhejiang, Wenzhou Academy of Agricultural Science, Wenzhou, Zhejiang 325006, China

Abstract: Aged seeds of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) 03A-120, which were stored at 10 °C for 5 years, were treated with 5 concentrations as follows: 10, 50, 100, 150 and 200 mg·L⁻¹. Results showed that, soaking with 100 mg·L⁻¹ gibberellin for 22 hours was the best treatment. After this treatment, germination percentage, germination rate, vigor index and root length of cauliflower aged seeds were increased, while abnormal seedling rate was decreased. Either activities of POD, CAT and dehydrogenase, or contents of soluble protein and chlorophyll enhanced, while contents of MDA and electrical conductivity in seed leakage decreased. Besides that, storing time of 100 mg·L⁻¹ GA₃-treated seeds had better limit to 25 days at 25 °C.

Key words: aging seed of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.); physiological and biochemical characteristics; GA₃ treatment; seed vigor

花椰菜种子价格昂贵, 种子生产单位年年制种。有些年份种子会过剩, 常不得不多贮存 1 年甚至 2 年以上。由于陈年种子活力低、发芽率不高, 农民不愿意采用, 损失非常大。据报道, GA₃ 可提高西葫芦(巩振辉等 1993)、甘蓝(吴道藩和宋明 2002; 方玉梅和宋明 2006)、蕹菜(王广印和韩世栋 2007)和毛竹(刘凤等 2009)等植物老化种子的活力。但在花椰菜老化种子中, 尚未见有 GA₃ 处理的报道。本文采用不同浓度 GA₃ 处理贮藏 5 年的花椰菜老化种子, 从中筛选出花椰菜老化种子的最佳 GA₃ 处理方法, 以提高花椰菜老化种子的利用价值。同时研究老化种子经 GA₃ 处理后的生理生化变化, 以供生产应用中参考。

材料与方 法

试验材料为我院生物所于 2004 年生产的花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) 自交系 03A-

120 种子, 10 °C 冰箱中储藏 5 年后发芽率为 80% 左右。试验于 2009 年 5 月进行。

种子处理的 GA₃ 浓度有 5 个: 即 10、50、100、150 和 200 mg·L⁻¹。每处理用 100 粒饱满种子, 置于小烧杯中, 分别倒入上述浓度的 GA₃ 溶液, 每杯 5 mL, 在培养室(25 °C, 光照: 黑暗 = 12 h: 12 h, 光照强度 37.5 μmol·m⁻²·s⁻¹) 中浸种处理 22 h 后用自来水冲洗数遍洗净药剂, 然后用吸水纸吸干, 在上述培养室中贮藏干燥 1 d 筛选出最佳浓度(100 mg·L⁻¹) 后, 再将最佳浓度 GA₃ 处理后的种子在温度为 25 °C 条件下贮藏不同时间, 并观察其对种子活力的影响。所有试验均重复 3 次。

测定内容有: (1) 测定种子活力时将处理过的种

收稿 2009-11-24 修定 2009-12-24

资助 浙江省科技计划(2008C22094)。

* 通讯作者(E-mail: zhushiyang2000@163.com; Tel: 0577-88413632)。

子和未经处理的老化种子(对照)在上述培养室中用垫有2层滤纸的培养皿($\phi=9$ cm)中发芽。每天记载发芽的种子数, 2 d统计发芽势, 5 d统计发芽率、测定苗高(cm)和根长(cm), 计算活力指数。活力指数 $VI = S \times \Sigma(G_t/D_t)$, 其中 S 为第5天的平均根长; G_t 为第 t 天发芽的种子数; D_t 为相应的发芽天数。畸形苗判别参考陶嘉龄和郑光华(1991)书中方法。(2)可溶性蛋白含量测定参考廖祥儒等(1995)文中方法, 略有改变。分别将20粒 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 处理过和未经处理的老化种子(对照)称重后, 用预冷的 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液[pH 7.2, 含2% 聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)]研磨提取, 匀浆后以 $7\ 379\times g$ 离心15 min, 上清液用日立 U-0080D 核酸蛋白检测仪测定可溶性蛋白含量。(3)超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)测定参考李合生(2000)书中方法; 过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)测定参考王建成等(2004)文中方法。酶液提取参考朱世杨和洪德林(2008)文中方法。吸光值用 Unico UV-2802PC 紫外可见分光光度计测定。(4)测定电导率(EC)和 pH 值时分别取20粒种子称重, 用蒸馏水洗涤5遍后加入20 mL 蒸馏水, 于 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下浸泡。用 DDS-307 电导仪和 Mettler Toledo 320-S pH 计分别测定浸种4、18和24 h 的电导率和 pH 值。电导率($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ ·

g^{-1})=(种子浸出液电导率 - 对照蒸馏水电导率)/种子重量。(5)脱氢酶活性测定参考朱世杨和洪德林(2008)文中方法, 以 $\text{OD}_{490}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)表示脱氢酶活性。(6)叶绿素(chlorophyll)含量测定参考王建成等(2004)文中方法, 测定第2、3、4天的子叶中叶绿素含量。

数据用 Excel 和方差分析软件进行统计和分析。

结果与讨论

1 GA_3 对花椰菜老化种子活力的影响

由表1可以看出, 花椰菜老化种子经不同浓度 GA_3 处理后, 发芽率和活力指数均显著提高; 发芽势除了 GA_3 浓度10和 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理提高不显著以外, 其余均显著提高; 虽然苗高无显著差异, 根长却显著增长; 畸形苗率除了 GA_3 浓度 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理降低不显著以外, 其余均显著降低。不同浓度 GA_3 处理之间比较, 发芽率、发芽势、活力指数均以 GA_3 浓度 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最高; 畸形苗率 GA_3 浓度10、50和 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 显著低于150和 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。据此认为, $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 处理的效果最佳, 处理后花椰菜老化种子的发芽率、发芽势、活力指数和根长显著提高, 畸形苗率显著降低。

表1 不同浓度 GA_3 对花椰菜老化种子活力的影响(LSD法)

Table 1 Effects of different concentrations of GA_3 on seed vigor of cauliflower aged seed

GA_3 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	发芽率/%	发芽势/%	活力指数	苗高/cm	根长/cm	畸形苗率/%
对照	80.7 ^b	76.3 ^d	141.4 ^c	2.30 ^a	3.08 ^d	12.7 ^a
10	88.0 ^a	80.3 ^{cd}	368.6 ^a	2.28 ^a	4.20 ^b	8.3 ^c
50	88.3 ^a	85.3 ^{ab}	361.8 ^a	2.32 ^a	4.13 ^b	8.7 ^c
100	90.0 ^a	86.7 ^a	373.5 ^a	2.38 ^a	4.35 ^a	8.8 ^c
150	87.0 ^a	80.7 ^{bcd}	367.4 ^a	2.34 ^a	3.80 ^c	11.3 ^b
200	85.0 ^{ab}	81.3 ^{bc}	309.2 ^b	2.31 ^a	3.82 ^c	12.3 ^{ab}

同一测定内容数字旁不同小写字母表示在0.05水平上的显著差异。下表同此。

2 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 对花椰菜老化种子生理生化性状的影响

(1)随着浸种时间增加, 种子浸出液的电导率呈显著增加趋势(表2)。说明吸水过程中老化种子内离子等物质不断由细胞渗出。老化种子经 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 处理后浸出液电导率显著降低。说明 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 可明显削弱花椰菜老化种子吸水过

程中细胞内物质的渗出。

(2)老化种子经 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 处理后, 浸出液在4、18和24 h 的 pH 值均不同程度增加(表2)。说明 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 可促使老化种子浸出液中碱性增强。

(3)种子活力与保护酶和脱氢酶活性以及可溶性蛋白含量密切相关(洪法水等 1995, 1999; Hsu 等

表2 100 mg·L⁻¹ GA₃处理后花椰菜老化种子浸出液电导率和pH值随浸种时间的变化(LSD法)Table 2 Changes of electrical conductivity and pH value along with soaking hour in cauliflower aged seed with 100 mg·L⁻¹ GA₃-treatment

浸种时间/h	电导率/ $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$		pH值	
	对照	100 mg·L ⁻¹ GA ₃ 处理	对照	100 mg·L ⁻¹ GA ₃ 处理
4	77.32 ^e	25.89 ^f	6.86 ^c	7.32 ^a
18	211.23 ^b	96.71 ^d	6.94 ^{bc}	6.98 ^b
24	272.20 ^a	168.59 ^c	6.91 ^{bc}	6.99 ^b

2003; 赵光武等 2006; 朱世杨和洪德林 2008)。100 mg·L⁻¹ GA₃处理后老化种子的POD、CAT活性显著提高, SOD活性降低不显著(表3)。说明100 mg·L⁻¹ GA₃可改善老化种子保护酶活性。此外, 100 mg·L⁻¹ GA₃处理后的老化种子脱氢酶活性和可溶性蛋白含量亦显著提高(表3)。说明100 mg·L⁻¹ GA₃可提高老化种子呼吸代谢系统相关酶和蛋白酶的活性。

(4) 100 mg·L⁻¹ GA₃处理的老化种子中MDA含量显著降低(表3)。表明100 mg·L⁻¹ GA₃可降低老化种子的脂质过氧化程度, 从而也提高了种子活力。

(5) 随着萌发天数增加, 花椰菜幼苗在第2、3、4天的子叶中叶绿素含量呈增加趋势(表4)。说明种子萌发过程中叶绿素不断合成, 这对老化种子萌发过程中幼苗的光合作用是有利的。

表3 100 mg·L⁻¹ GA₃处理对花椰菜老化种子SOD、POD、CAT、脱氢酶活性和可溶性蛋白、MDA含量的影响(LSD法)Table 3 Effects on activities of SOD, POD, CAT and dehydrogenase, contents of soluble protein and MDA in cauliflower aged seed after 100 mg·L⁻¹ GA₃ treatment

GA ₃ /mg·L ⁻¹	SOD活性/ U·g ⁻¹ (DW)	POD活性/ U·g ⁻¹ (DW)·min ⁻¹	CAT活性/ U·g ⁻¹ (DW)·min ⁻¹	脱氢酶活性/ OD·g ⁻¹ (DW)	可溶性蛋白含量/ mg·g ⁻¹ (DW)	MDA含量/ nmol·g ⁻¹ (DW)
对照	137.312 ^a	13.570 ^b	127.490 ^b	1.370 ^b	22.018 ^b	23.035 ^a
100	119.954 ^a	19.930 ^a	145.132 ^a	3.765 ^a	25.434 ^a	6.369 ^b

表4 100 mg·L⁻¹ GA₃处理后花椰菜老化种子不同萌发天数幼苗子叶中叶绿素含量的变化(LSD法)Table 4 Changes of chlorophyll of cotyledon in different germinating days in cauliflower aged seed after treating 100 mg·L⁻¹ GA₃-treatment

GA ₃ /mg·L ⁻¹	叶绿素含量/mg·g ⁻¹ (DW)		
	萌发2 d	萌发3 d	萌发4 d
对照	0.104 ^e	2.337 ^c	4.678 ^a
100	1.178 ^d	3.742 ^b	4.801 ^a

表5 100 mg·L⁻¹ GA₃处理后不同贮藏时间对花椰菜老化种子活力的影响(LSD法)Table 5 Effects on seed vigor of cauliflower aged seeds after 100 mg·L⁻¹ GA₃-treatment in different storage time

100 mg·L ⁻¹ GA ₃ 处理后贮藏时间/d	发芽率/%	发芽势/%
对照	80.7 ^d	74.0 ^c
1	90.0 ^a	86.7 ^a
5	88.3 ^{ab}	85.0 ^{ab}
10	88.0 ^{ab}	85.3 ^{ab}
15	86.7 ^{abc}	84.0 ^{ab}
20	86.0 ^{abc}	85.0 ^{ab}
25	85.7 ^{bc}	82.3 ^{ab}
30	85.0 ^{bc}	81.3 ^b
50	83.3 ^{cd}	52.0 ^d

3 100 mg·L⁻¹ GA₃处理后不同贮藏时间对花椰菜老化种子活力的影响

由表5可知, 随着100 mg·L⁻¹ GA₃处理后贮藏

时间的增加,老化种子发芽率、发芽势基本上呈下降趋势,说明贮藏时间影响 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ GA}_3$ 处理效果。 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ GA}_3$ 处理后,发芽率在贮藏 1~20 d 下降不明显,但贮藏 25 d 后开始明显下降;发芽势则在贮藏 30 d 后开始下降。说明花椰菜老化种子对 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ GA}_3$ 处理的效果维持在 25 d 之内,这显示花椰菜老化种子经 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ GA}_3$ 处理后须在 25 d 内及时播种,否则将影响 GA_3 浸种效果。

参考文献

- 方玉梅, 宋明(2006). PEG 和 GA_3 以及 KH_2PO_4 对甘蓝种子活力的影响. 中国种业, 11: 33~34
- 巩振辉, 王鸣, 周新民, 利继东(1993). 外源激素对老化西葫芦种子活力及幼苗生长影响. 北方园艺, (1): 4~7
- 洪法水, 方能虎, 赵贵文(1999). 镧提高水稻种子活力的生理生化基础研究. 西北植物学报, 19 (4): 585~591
- 洪法水, 王旭明, 马成仓(1995). PEG 预处理提高玉米种子活力和萌发代谢的效应. 安徽农业科学, 23 (2): 111~113
- 李合生主编(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社
- 廖祥儒, 孙群, 高俊凤, 荆加海(1995). PEG 预处理引发绿豆种子的某些生理生化变化. 植物生理学通讯, 31 (3): 189~191
- 刘凤, 曹帮华, 蔡春菊, 唐全, 曹玉翠, 贾波(2009). GA_3 提高毛竹种子活力的机理探索. 西南林学院学报, 29 (1): 22~25
- 陶嘉龄, 郑光华(1991). 种子活力. 北京: 科学出版社
- 王广印, 韩世栋(2007). 提高蕹菜种子活力的试验研究. 内蒙古农业大学学报, 28 (3): 90~94
- 王建成, 胡晋, 张新觉, 徐群, 周胜利, 徐盛春(2004). 盐引发对不同水分条件下油菜种子发芽成苗的影响. 种子, 23 (1): 6~8, 12
- 吴道藩, 宋明(2002). 提高甘蓝种子活力的方法与机理研究. 园艺学报, 29 (6): 542~546
- 赵光武, 孙群, 王建华(2006). 药沙引发对超甜玉米种子活力及其生理变化的影响. 作物学报, 32 (1): 147~151
- 朱世杨, 洪德林(2008). 籼稻 2 个杂种 F_1 种子活力和劣变处理后生化性状的比较. 中国生态农业学报, 16 (2): 396~400
- Hsu CC, Chen CL, Chen JJ, Sung JM (2003). Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter melon seed and effects of priming and hot water soaking treatments. Sci Horticult, 98: 201~212