精胺和亚精胺引发对超甜玉米不同成熟度种子萌发质量的影响

曹栋栋[1,4], 黄玉韬[1], 秦叶波[3], 罗英[2], 关亚静[2], 胡晋[2,*]

[1]浙江省农业科学院, 作物与核技术利用研究所, 杭州310021
[2]浙江大学农业与生物技术学院, 种子科学中心, 杭州310058
[3]浙江省种植业管理局, 杭州310020
[4]湖州科奥种业有限公司, 浙江湖州313000

摘要: 种子质量低下严重影响了甜玉米种子的发芽率和成苗, 甚至降低产量。本研究选用0.1 mmol·L^{-1}和0.5 mmol·L^{-1}亚精胺(Spd)和精胺(Spm)作为引发剂, 研究了其对不同成熟度超甜玉米种子萌发质量和萌发后幼苗质量的影响。结果表明, 与2个对照相比, 0.1 mmol·L^{-1}和0.5 mmol·L^{-1} Spm处理显著提高了授粉后18、22、26和30 d种子的发芽率和发芽势, 与未引发种子(CK_1)比, 0.5 mmol·L^{-1} Spd处理显著提高了授粉后18、22、26和30 d种子的发芽率。两种浓度的Spd和Spm及清水引发(CK_2)与CK_1比, 均显著提高了授粉后18~30 d种子的发芽指数。Spd和Spm引发提高了幼苗质量和幼苗叶片叶绿素*a*和叶绿素*b*的含量。Spd和Spm处理提高了种子过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)的活性。Spd处理显著降低了不同成熟度甜玉米种子的浸出液核酸含量。Spm处理显著提高4C型与2C型细胞数比率, 提高了胚根尖细胞内DNA复制水平, 而Spd处理效果不明显。可见, Spd和Spm引发处理能促进不同成熟时期收获的超甜玉米种子的萌发, 提高种子抗氧化酶活性和幼苗各项生理指标, 但两者对各质量指标的作用效果不同。从对发芽效果看, Spm的效果优于Spd, 且以0.5 mmol·L^{-1}浓度较佳。

关键词: 超甜玉米; 精胺; 亚精胺; 种子发芽; 幼苗质量; 引发

超甜玉米由于其良好的口感和营养价值而受到越来越多的人青睐。但超甜玉米种子发芽率往往较低, 如何提高超甜玉米的种子质量, 提高其萌发和产量成了全世界关注的问题。种子萌发一般分为吸胀、萌动、发芽和成苗四个阶段(Rajjou等2012)。种子引发也称为渗透调节, 是指在播种前根据种子性质和吸水速率, 通过控制种子缓慢吸水, 使其停留在吸胀阶段, 促进细胞膜、细胞器、DNA的修复和酶的活化, 使之处于发芽的准备状态, 但防止胚根伸出(李洁等2016)。目前, 利用引发来提高种子发芽和成苗的研究已有较多报道。如应用聚乙二醇、KCl、$CaCl_2$、K_2HPO_4、细胞分裂素、苄基氨基嘌呤和砂子等药剂或基质进行引发来提高水稻、小麦、玉米、黄瓜、西红柿和苜蓿等作物的种子萌发和幼苗质量(El-Araby等2004; Farooq等2008)。在甜玉米种子引发方面, 聚乙二醇以及赤霉素、细胞分裂素和油菜素内酯都有明显的效果(Murray 1990; 宋亮等2006)。

多胺(polyamines, PAs)主要包括腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)和精胺(spermine, Spm), 是生物代谢过程中产生的、广泛存在于生物体内的具有较高活性的一类低分子脂肪族含氮碱, 广泛参与种子萌发、幼苗生长、种子发育、逆境响应以及种子休眠等重要生理过程(付玉营等2016)。多胺引发种子能改变种子萌发后幼苗叶片的含水情况、光合作用和膜完整性, 从而提高水稻的抗旱性和抗寒性以及南瓜幼苗的耐盐性(Farooq等2009; Sheteiwy等2017; Nejad-Alimoradi等2018), 还能提高向日葵种子的萌发和早期的幼苗生长(Farooq等2007)。另外有报道表明外源Spd浸种能提高玉米种子在渗透胁迫下的萌发能力(杜红阳等2010)。成熟度差的种子, 发芽质量往往较差, 能否通过引发方法提高种子萌发质量, 此方面的研究鲜有报道。因此本试验选用Spd和Spm作引发剂, 研究了引发处理对甜玉米不同成熟度种子发芽和萌发后幼苗质量的影响, 以期为成熟度差种子的利用提供理论依据。

收稿 2018-09-03 **修定** 2018-11-20
资助 国家重点研发计划(2018YFD0100900和2018YFD-0100800)、国家自然科学基金(31671774)、浙江大学大北农学科发展和人才培养基金和江苏省现代作物生产协同创新中心项目。
* 通讯作者(jhu@zju.edu.cn)。

1 材料与方法

1.1 试验材料种植和种子收获

甜玉米(*Zea mays* L. *saccharata* Sturt.) ‘农大特甜17’作为试验材料。在其母本果穗抽丝前进行套袋, 抽雄扬花后进行人工授粉, 得到该材料的杂交F_1种子。父母本生长期间进行一致的传统田间管理。试验在浙江大学试验农场进行。试验中, 分别于授粉后(days after pollination, DAP) 18、22、26和30 d收获母株上的果穗。每次收获时, 选取10株母株的上端第一个果穗, 手工脱粒并经40°C烘干24 h后低温保存供试验所用。

1.2 引发试验

使用Spd和Spm两种溶液各0.1 mmol·L^{-1}和0.5 mmol·L^{-1} (通过引发预实验效果确定)两种浓度引发。种子经过0.1% NaClO溶液消毒15 min后进行引发。在垫有2层滤纸的培养皿中加10 mL引发溶液, 每个培养皿放50粒甜玉米种子, 加盖后用Parafilm封口膜密封, 置于15°C黑暗条件下引发72 h, 引发期间未见胚根伸出。引发结束后用蒸馏水快速冲洗种子, 吸干表面水分, 然后在25°C下回干至原始含水量。未经引发种子设为CK_1, 参照Spd和Spm引发方法, 经清水引发种子设为CK_2。

1.3 发芽试验

参照Huang等(2017)发芽方法, 采用6 cm×12 cm湿润纸卷发芽, 4次重复, 每重复100粒种子。种子置于25°C恒温培养箱中, 设置12 h光照/12 h黑暗, 光通量为350 μmol·m^{-2}·s^{-1}。以种子胚根突破种皮1 mm为发芽标准, 每天记录发芽数, 在发芽4 d和7 d分别计算发芽势和发芽率, 并计算发芽指数和活力指数。发芽指数GI=∑(G_t/T_t), 其中G_t为逐日发芽种子数, T_t为G_t相对应的发芽时间(d)。活力指数VI=GI×苗鲜重。

1.4 幼苗物理性状测定

发芽7 d后, 每个处理设置3次重复, 每个重复选取10株幼苗, 用直尺测量其根长和苗高, 精确到0.1 mm。用千分之一电子天平分别称量幼苗的地上部(shoot)和地下部(root)的鲜重, 然后将幼苗放入80°C烘箱烘24 h后, 称其干重。

1.5 叶绿素含量测定

发芽试验7 d后, 每个处理取10株幼苗作为10个重复, 测定其叶片的叶绿素含量。取0.2 g幼苗叶片, 用4 mL 95%的酒精研磨提取, 在3 600×*g*下离心10 min, 用2 mL提取液稀释到10 mL, 然后, 用UV-754型分光光度计分别测定其在470、649、665 nm的吸光度A_{470}、A_{649}和A_{665}。根据芦丽娜等(2017)提供的公式计算叶绿素的浓度(mg·L^{-1})。总叶绿素含量为叶绿素*a*和叶绿素*b*之和。

1.6 种子可溶性总蛋白含量、酶活性测定

可溶性总蛋白的测定用考马斯亮蓝G-250染色法(高晓霞等2017)。每个处理称取0.2 g甜玉米种子材料, 用5 mL蒸馏水研磨成匀浆后, 19 000×*g*离心10 min, 吸取1 mL样品提取液, 转移至具塞试管中, 加入5 mL考马斯亮蓝G-250溶液, 充分混合, 放置2 min后在595 nm下比色, 测定吸光度值, 并通过标准曲线查得蛋白质含量, 然后计算单位种子鲜重中蛋白质含量。指标测定时每个处理设置10次重复。

酶提取液制备: 称取0.3 g各处理甜玉米种子, 加入3 mL (pH 7.8)磷酸缓冲液, 加少量石英砂, 冰浴研磨, 用7 mL磷酸缓冲液(pH 7.8)冲洗, 转至离心管。在4°C下, 以10 000×*g*离心20 min, 转移上清液至另一离心管中, 低温保存备用, 用以测定过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。POD、CAT和SOD活性测定参考Wu等(2003)方法。

1.7 种子浸出液核苷酸含量测定

取单粒甜玉米种子用于种子浸出液核苷酸含量测定, 每个处理设置10次重复。种子浸出液核苷酸含量测定按照郑昀晔等(2008)方法进行。每粒种子置于装有10 mL去离子水的20 mL试管中, 将试管放置于25°C恒温培养箱中24 h。取3 mL浸出液在260 nm下测定其吸光光度值。核苷酸浓度的计算公式为: 1 OD＝40 μg·mL^{-1}。

1.8 种子萌发后胚根尖细胞核DNA复制水平的测定

应用流式细胞仪方法测定(Sliwinska 2009), 稍作修改。种子萌发48 h后切取20 mg胚根尖洗净后置于干净培养皿中, 移取1 mL 0.1 mol·L^{-1}的OttoI溶液(4.2 g柠檬酸, 0.5%吐温20定容至200 mL, 4°C下保存备用), 用双面刀片将胚根尖切碎。用1 mL移液枪吸取切好的样品经过350目尼龙筛网过滤到1.5 mL离心管中。对所得滤液在19 000×*g*的条件下离心30 s。用1 mL移液枪移去部分上清液, 留

0.1 mL于离心管内, 加入200 μL Propidium Iodide (PI)染料。将FACSCalibur流式细胞仪系统光源设为488 nm的氩粒子激光, 染料为美国BD公司生产的PI/RNase (ACT. No: 550825)。在检测样品之前, 开启流式细胞仪预热5 min。

1.9 数据统计分析

所有百分数结果数据均经过反正弦转换(y= arc sin[sqr(x/100)]), 采用SAS (V8)软件进行方差分析, 多重比较采用LSD, α=0.05。

2 实验结果

2.1 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子发芽的影响

与CK_1和CK_2比, 0.1和0.5 mmol·L^{-1} Spm处理显著提高了18、22、26和30 DAP种子的发芽势和发芽率。与CK_1比, 0.5 mmol·L^{-1} Spd处理显著提高了18、22、26和30 DAP种子的发芽势和发芽率; 与CK_1和CK_2比, 0.1 mmol·L^{-1} Spd处理只显著提高了30 DAP种子的发芽率, 对其他成熟度种子的发芽势与发芽率没有显著影响(图1-A和B)。

在发芽指数上, 与未引发的CK_1比, 除0.1 mmol·L^{-1} Spd处理对22 DAP种子的发芽指数无显著影响外, 2种浓度的Spd和Spm处理及清水引发CK_2都显著提高18~30 DAP种子的发芽指数(图1-C)。在活力指数上, 与CK_1比, 除了0.1 mmol·L^{-1} Spd和0.5 mmol·L^{-1} Spm处理对22 DAP种子的活力指数无显著影响外, 其他Spd和Spm处理均显著提高了相对应的18、22、26和30 DAP 种子的活力指数。而与CK_2比, 0.5 mmol·L^{-1} Spd和0.1 mmol·L^{-1} Spm处理能显著提高22 DAP的种子活力指数, 0.5 mmol·L^{-1} Spd处理还显著提高了26 DAP种子的活力指数(图1-D)。

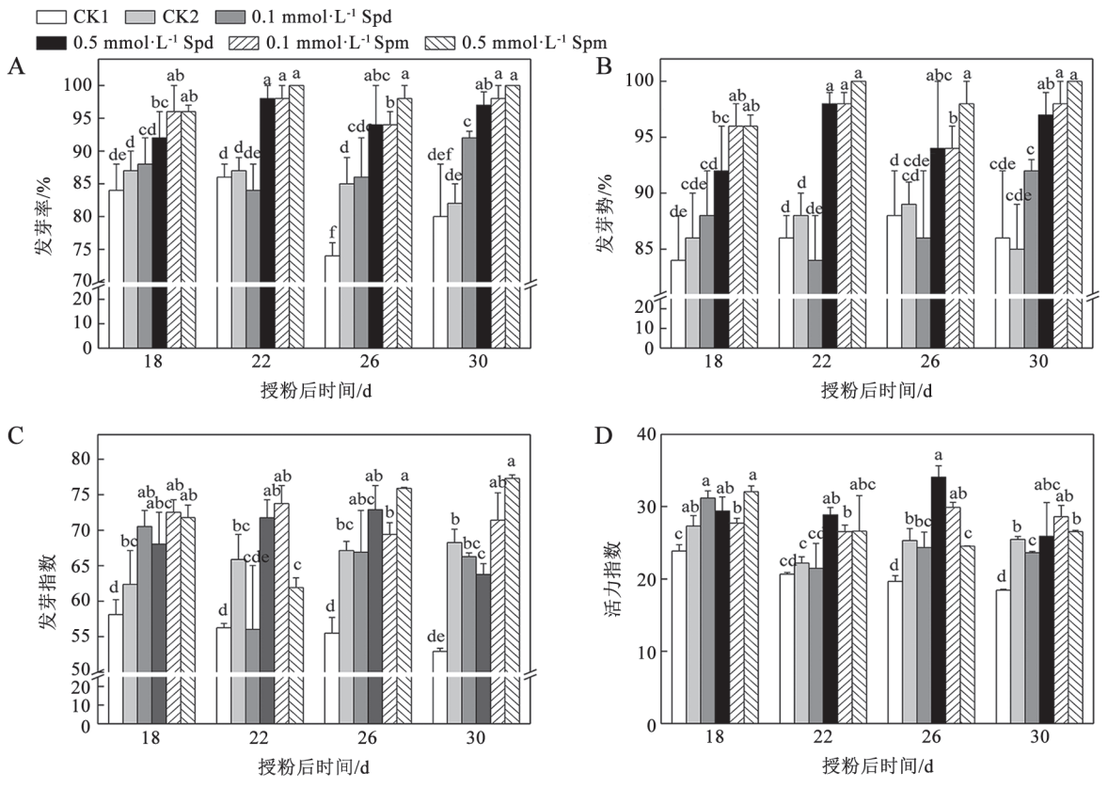

图1 Spd和Spm引发对超甜玉米种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的影响

Fig.1 Effects of Spd and Spm priming on germination percentage, germination energy, germination index and vigor index in supersweet corn seeds

不同小写字母表示处理间平均值在0.05水平有显著差异; CK_1为未引发对照, CK_2为清水引发对照, 图2和3同此。

2.2 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子萌发后幼苗苗高和根长的影响

与CK_1和CK_2比, 0.5 mmol·L^{-1} Spd处理显著提高了18和26 DAP的苗高。而0.5 mmol·L^{-1} Spm处理则显著增加了18和22 DAP的苗高。在幼苗的根长方面, 0.5 mmol·L^{-1} Spd处理显著提高了18和22 DAP幼苗根长, 0.1 mmol·L^{-1} Spm显著提高了22和30 DAP幼苗的根长。另外, 与CK_1和CK_2相比, 0.1 mmol·L^{-1} Spd对不同成熟度种子萌发后的幼苗均无显著影响(表1)。

2.3 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子发芽后幼苗干重的影响

对苗干重影响, 以0.5 mmol·L^{-1} Spm引发效果比较明显, 该处理使18 DAP的苗干重显著高于同时期的2个对照(表2)。0.1 mmol·L^{-1} Spd和Spm处理显著提高26 DAP的苗干重, 但与CK_2无显著差异。在根干重方面, 经2个浓度的Spd和Spm引发处理均没有显著高于清水引发处理。与CK_1比, 0.5 mmol·L^{-1} Spd 和0.5 mmol·L^{-1} Spm处理显著提高了18 DAP幼苗的根干重, 其他处理对四个时期的根干重无显著影响(表2)。

2.4 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子发芽后幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

经Spd和Spm引发的18、22、26和30 DAP种子产生的幼苗, 其叶绿素*a*含量比2个对照有所增高, 但均未达显著(图2-A)。Spd和Spm引发对幼苗叶绿素*b*的影响与叶绿素*a*相似, 只有0.1 mmol·L^{-1} Spd处理对26 DAP以及0.5 mmol·L^{-1} Spd对30 DAP幼苗的叶绿素*b*有显著提高(图2-B)。与2个对照比, 0.1和0.5 mmol·L^{-1} Spd均提高了18、26与30 DAP幼苗总叶绿素含量(图2-C)。类胡萝卜素含量相对叶绿素*a*和叶绿素*b*较少, Spd和Spm引发对其浓度影响不大, 与CK_1和CK_2无显著差异(图2-D)。

2.5 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子浸出液核苷酸含量和种子可溶性总蛋白含量的影响

经过0.1和0.5 mmol·L^{-1} Spd引发的18、22、26和30 DAP种子浸出液核苷酸含量均低于2个对照(表3)。其中0.5 mmol·L^{-1} Spd处理对22 DAP种子作

表1 Spd和Spm引发对超甜玉米幼苗苗高和根长的影响

Table 1 Effects of Spd and Spm priming on shoot length and root length in supersweet corn seedlings

处理	DAP 18		DAP 22		DAP 26		DAP 30	
	苗高/cm	根长/cm	苗高/cm	根长/cm	苗高/cm	根长/cm	苗高/cm	根长/cm
CK_1	18.86±0.55^{c}	10.28±0.36^{b}	19.24±0.71^{c}	10.24±0.49^{b}	18.92±0.51^{c}	9.72±0.42^{b}	18.06±0.44^{cd}	10.16±0.48^{b}
CK_2	18.16±0.47^{c}	9.98±0.23^{b}	18.88±0.92^{c}	10.01±0.35^{b}	19.12±0.32^{c}	9.85±0.51^{b}	19.01±0.37^{c}	9.82±0.38^{b}
Spd-1	19.24±0.86^{c}	11.06±0.66^{b}	16.04±0.52^{d}	10.50±0.10^{b}	18.68±0.36^{c}	9.90±0.33^{b}	18.72±0.64^{c}	10.18±0.94^{b}
Spd-2	23.12±1.17^{a}	13.34±0.71^{a}	18.12±0.43^{cd}	13.66±1.30^{a}	22.70±1.24^{a}	9.66±1.23^{b}	19.34±1.29^{c}	11.18±1.33^{b}
Spm-1	20.02±0.73^{bc}	10.64±0.90^{b}	19.78±1.30^{c}	10.76±1.04^{b}	18.06±0.47^{cd}	9.94±0.77^{b}	19.14±0.30^{c}	13.32±1.20^{a}
Spm-2	21.60±0.83^{ab}	15.20±0.83^{a}	22.00±1.01^{ab}	11.02±0.59^{b}	20.62±1.91^{abc}	7.18±0.47^{c}	19.72±0.77^{bc}	9.70±0.86^{b}

同列不同小写字母表示处理间有显著差异(α=0.05); CK_1为未引发对照; CK_2为清水引发对照; Spd-1: 0.1 mmol·L^{-1} Spd溶液引发; Spd-2: 0.5 mmol·L^{-1} Spd溶液引发; Spm-1: 0.1 mmol·L^{-1} Spm溶液引发; Spm-2: 0.5 mmol·L^{-1} Spm溶液引发; DAP: 授粉后时间(d)。下同。

表2 不同浓度Spd和Spm引发对超甜玉米幼苗苗干重和根干重的影响

Table 2 Effects of Spd and Spm priming on dry weight of shoot and root in supersweet corn seedlings

处理	DAP 18		DAP 22		DAP 26		DAP 30	
	苗干重(10株)/g	根干重(10株)/g	苗干重(10株)/g	根干重(10株)/g	苗干重(10株)/g	根干重(10株)/g	苗干重(10株)/g	根干重(10株)/g
CK_1	0.22±0.02^{bc}	0.06±0.00^{c}	0.22±0.01^{bc}	0.07±0.01^{bc}	0.20±0.01^{c}	0.07±0.01^{bc}	0.20±0.01^{c}	0.09±0.01^{a}
CK_2	0.25±0.02^{bc}	0.07±0.01^{abc}	0.22±0.02^{c}	0.08±0.01^{ab}	0.24±0.01^{bc}	0.07±0.01^{abc}	0.23±0.01^{bc}	0.08±0.01^{ab}
Spd-1	0.22±0.01^{b}	0.06±0.01^{c}	0.24±0.01^{ab}	0.08±0.01^{ab}	0.23±0.01^{b}	0.06±0.01^{c}	0.21±0.01^{c}	0.08±0.01^{ab}
Spd-2	0.25±0.02^{ab}	0.08±0.01^{ab}	0.23±0.03^{abc}	0.08±0.01^{ab}	0.23±0.04^{abc}	0.07±0.01^{abc}	0.22±0.02^{bc}	0.10±0.02^{a}
Spm-1	0.23±0.01^{b}	0.05±0.01^{c}	0.21±0.00^{c}	0.06±0.00^{c}	0.27±0.04^{ab}	0.06±0.01^{c}	0.22±0.01^{bc}	0.09±0.01^{a}
Spm-2	0.27±0.01^{a}	0.10±0.03^{a}	0.24±0.07^{ab}	0.07±0.01^{abc}	0.22±0.01^{bc}	0.08±0.01^{ab}	0.21±0.02^{bc}	0.09±0.01^{a}

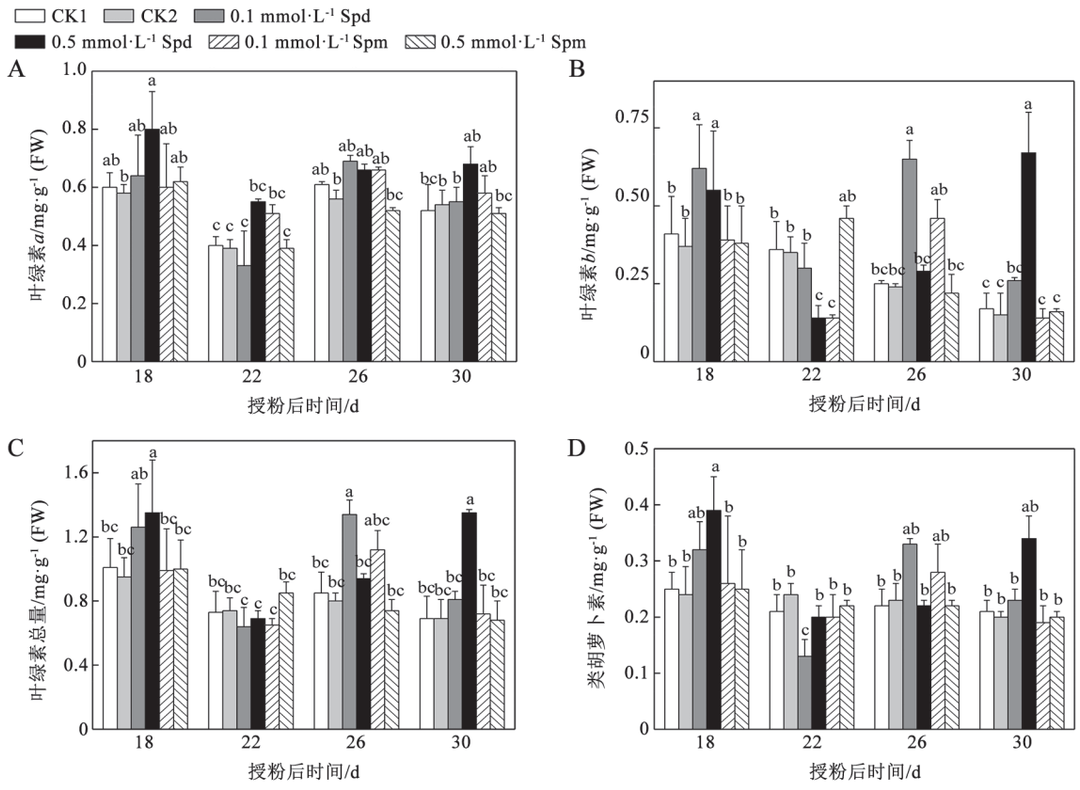

图2 Spd和Spm引发对超甜玉米幼苗叶绿素与类胡萝卜素含量的影响

Fig.2 Effects of Spd and Spm priming on chlorophyll and carotenoid contents in supersweet corn seedlings

用最明显, 其浸出液核苷酸含量显著低于CK_1和CK_2。2个浓度的Spm处理作用与Spd相反, 经过0.1和0.5 mmol·L^{-1} Spm处理的26和30 DAP种子浸出液核苷酸含量显著高于2个对照。经过Spd和Spm处理种子可溶性总蛋白含量没有显著变化, 在所有处理中, 只有0.5 mmol·L^{-1} Spm处理提高了26 DAP种子的该值, 并显著高于CK_1 (表3)。

2.6 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子POD、CAT和SOD活性的影响

除0.1 mmol·L^{-1} Spm处理的22 DAP外, Spd和Spm引发处理的不同成熟度种子POD活性均高于CK_1和CK_2 (图3-A)。与CK_1和CK_2比, 0.1 mmol·L^{-1} Spd处理显著提高18和26 DAP种子的CAT活性, 而0.1 mmol·L^{-1} Spm则显著提高了26和30 DAP种子

表3 Spd和Spm引发对超甜玉米种子可溶性总蛋白和浸出液核苷酸含量的影响

Table 3 Effects of Spd and Spm priming on total soluble protein concentration and leached nucleic acid concentration in supersweet corn seeds

处理	浸出液核苷酸含量/μg·seed^{-1}				可溶性总蛋白含量/mg·g^{-1} (FW)			
	DAP 18	DAP 22	DAP 26	DAP 30	DAP 18	DAP 22	DAP 26	DAP 30
CK_1	93.72±8.28^{bc}	95.28±1.92^{bc}	81.72±3.72^{cd}	78.36±2.52^{cd}	0.317±0.002^{abc}	0.326±0.002^{abc}	0.314±0.003^{bc}	0.321±0.005^{abc}
CK_2	95.48±4.19^{bc}	92.19±2.43^{bc}	88.72±3.72^{bc}	80.24±2.52^{cd}	0.318±0.005^{abc}	0.322±0.003^{abc}	0.319±0.002^{abc}	0.323±0.003^{abc}
Spd-1	85.56±6.60^{cd}	91.68±22.08^{cd}	72.12±1.32^{d}	57.36±1.44^{d}	0.322±0.002^{abc}	0.328±0.010^{abc}	0.327±0.002^{abc}	0.327±0.001^{abc}
Spd-2	80.64±1.68^{cd}	75.96±6.84^{d}	58.08±5.76^{d}	50.76±0.12^{d}	0.313±0.010^{c}	0.332±0.010^{ab}	0.322±0.003^{abc}	0.323±0.005^{abc}
Spm-1	111.84±7.44^{b}	98.76±1.56^{bc}	147.12±5.28^{a}	149.52±15.12^{a}	0.312±0.020^{c}	0.330±0.004^{abc}	0.321±0.001^{abc}	0.326±0.001^{abc}
Spm-2	90.00±3.36^{cd}	78.36±1.08^{cd}	100.68±9.24^{b}	114.00±3.12^{b}	0.330±0.001^{abc}	0.329±0.002^{abc}	0.334±0.003^{a}	0.320±0.001^{abc}

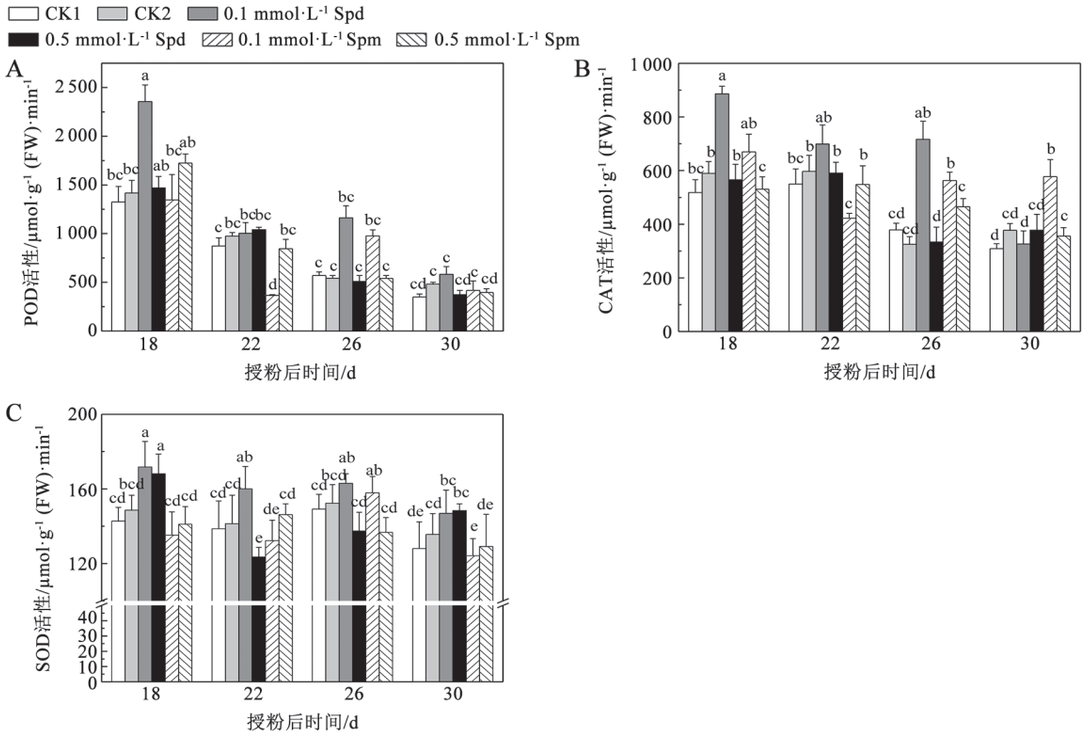

图3 Spd和Spm引发对超甜玉米玉米种子POD、CAT和SOD活性的影响

Fig.3 Effects of Spd and Spm priming on POD, CAT and SOD activities in supersweet corn seeds

的CAT活性, 0.5 mmol·L^{-1} Spd和Spm处理都无显著效果(图3-B)。Spd引发对种子SOD活性的提高效果明显大于Spm。Spm处理与2个对照比, 没有显著提高各成熟度种子的SOD活性。而0.1 mmol·L^{-1} Spd引发显著提高了18、22和30 DAP种子的SOD活性, 0.5 mmol·L^{-1} Spd显著提高18和30 DAP种子的SOD活性。另外, CK_1和CK_2之间无显著差异(图3-C)。

2.7 Spd和Spm引发对不同成熟度超甜玉米种子萌发后胚根尖细胞核DNA复制水平的影响

不同成熟度种子萌发的胚根尖DNA复制水平在CK_1和CK_2间无显著差异(表4)。Spd处理对4C型与2C型细胞数比率影响不显著, 只有0.5 mmol·L^{-1} Spd处理显著提高了22 DAP的该比率。而Spm处理效果较好, 除0.1 mmol·L^{-1} Spm处理的22和26 DAP胚根尖4C:2C值与2个对照无显著差异外, 其他所有Spm处理均显著提高了该值(表4), 而且对18 DAP的胚根尖作用尤为明显(图4)。

3 讨论

目前多胺(PAs)被认为是植物生长调节物质和

表4 Spd和Spm引发对超甜玉米种子萌发后胚根尖细胞核DNA复制水平的影响

Table 4 Effects of Spd and Spm priming on the ratio of 2C:4C signal in embryonic root tip cells in supersweet corn

处理	4C细胞与2C细胞含量比			
	DAP 18	DAP 22	DAP 26	DAP 30
CK_1	0.92±0.02^{bc}	0.90±0.04^{bc}	0.84±0.01^{c}	0.88±0.02^{bc}
CK_2	0.95±0.01^{bc}	0.92±0.03^{bc}	0.93±0.01^{bc}	0.91±0.04^{bc}
Spd-1	1.03±0.01^{b}	1.05±0.26^{abc}	0.99±0.10^{abc}	0.87±0.23^{c}
Spd-2	0.89±0.15^{c}	1.21±0.06^{a}	0.99±0.24^{abc}	0.86±0.03^{c}
Spm-1	1.24±0.36^{a}	0.93±0.17^{abc}	0.88±0.01^{c}	1.02±0.05^{a}
Spm-2	1.27±0.11^{a}	1.18±0.11^{a}	1.23±0.11^{a}	1.04±0.08^{a}

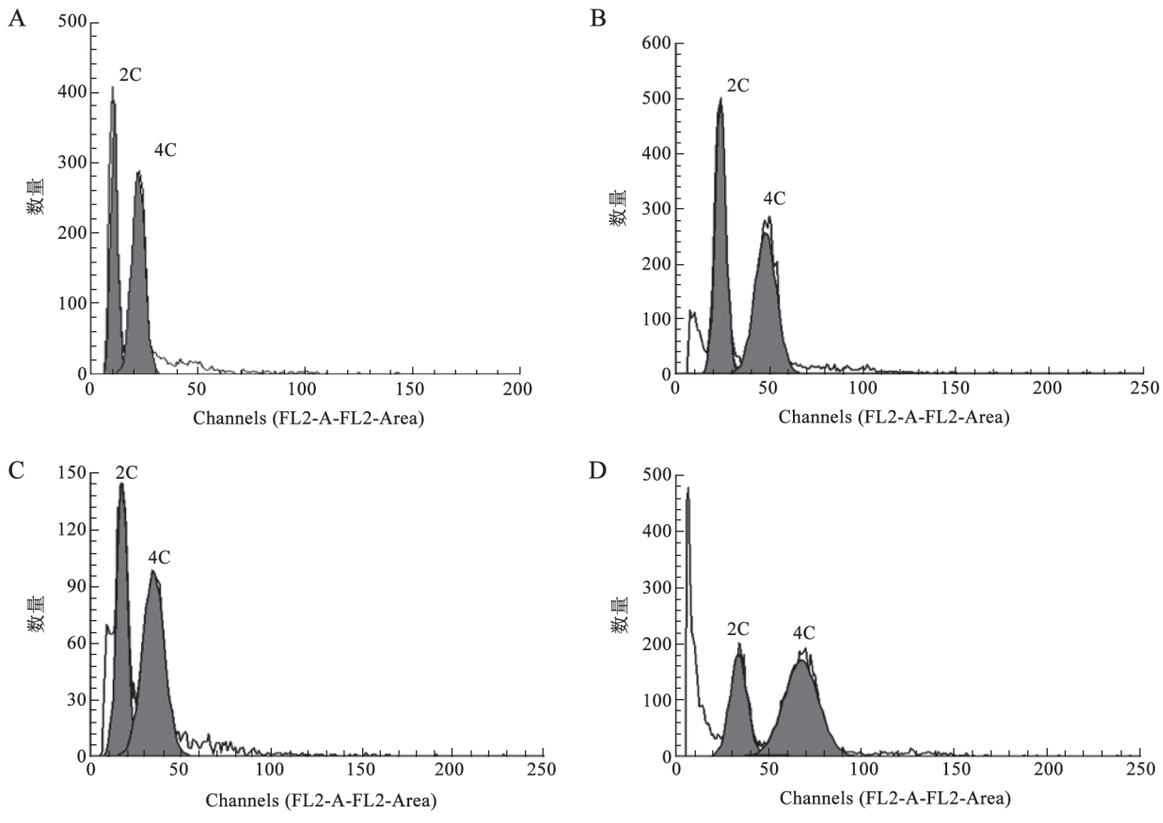

图4 超甜玉米种子胚根尖细胞流式细胞分析仪测定图谱

Fig.4 Histograms of flow cytometric analysis of the number of nuclei per cell in embryonic root tip cells in supersweet corn seed

A: CK_1; B: CK_2; C: 0.1 mmol·L^{-1} Spm处理; D: 0.5 mmol·L^{-1} Spm处理。试验材料为萌发48 h的甜玉米种子(授粉后18 d收获)。

信号传导的第二信使, 在植物生长和发育过程中具有一系列的生理学作用(Kusano等2008)。引发能增强种子活力, 从而提高早期的萌发(Li等2017)。本研究表明对不同成熟度的甜玉米种子, Spd和Spm引发处理都能提高种子的发芽指标, 这与前人在玉米(郑昀晔等2008)、向日葵(Kausar等2009)种子上的研究结果基本一致。引发处理使发芽率提高可能是因为Spd和Spm激活了营养储藏物质, 从而加速细胞分裂和促进胚轴的伸长。而对种子进一步萌发的促进作用则可能是PAs引发增强了玉米发芽种子新陈代谢的活力(Shakirova等2003)。本研究还发现, Spm比Spd对甜玉米种子发芽率的提升更明显, 说明Spm与种子发芽率关系比Spd更密切。而对于发芽势、发芽指数和活力指数, Spd和Spm的处理效果对不同成熟度的种子没有显著差异, 但是2种PAs的引发都以相对高浓度(0.5 mmol·L^{-1})的处理效果明显。

本研究表明, PAs处理种子不仅能提高其发芽能力, 还能提高幼苗质量, 如根长、苗高、干重和叶片指数等。叶绿素和类胡萝卜素是植物进行光合作用的物质基础, 其含量决定了光合作用效率。本研究表明PAs引发能提高甜玉米幼苗鲜叶内叶绿素*a*和叶绿素*b*的含量, 且以Spd效果明显, 但是类胡萝卜素含量并没有提高。一般认为, PAs能与吸收光能的叶绿素复合体、光系统I (PSI)和光系统II (PSII)的反应中心以及Rubisco羧化酶结合, 可以防止叶绿体的类囊体膜等膜多肽丧失, 保持叶绿体类囊体膜的完整性, 阻止叶绿素降解, 从而提高叶绿素含量(Borrell等1997)。Spd和Spm引发还使种子内的POD、CAT和SOD活性提高, 可能是以多聚阳离子方式存在的PAs与带负电的核酸、蛋白质结合, 刺激蛋白质合成的中间步骤, 从而对某些蛋白质基因的表达起调控作用, 提高了植物体内抗氧化酶的活性(Matilla 1996)。本研究还发现

Spd和Spm对CAT和SOD活性的影响大于POD活性, 而且Spd的作用较显著。单粒种子浸出液中核苷酸含量的增加跟电导率的升高都被认为是细胞膜损伤的标志(Feng等2003)。Spd显著降低了不同成熟度甜玉米种子的浸出液核苷酸含量, 表明Spd引发能起到保护种子细胞膜完整性的作用, 但是相对于未经引发和清水引发的种子, Spm引发却对膜完整性产生了一定破坏作用, 原因还有待进一步研究。

胚分裂细胞有丝分裂周期分为4个时期, 分别为合成前期(G_1期)、合成期(S期)、合成后期(G_2期)和分裂期(M期)。G_1期、S期、G_2期合称为分裂间期。胚内正常静止期核DNA含量为2C (C为染色体数为*n*的单倍染色体组的DNA含量), 正常分裂细胞在各个时期其核DNA含量各不相同, 并呈周期性变化: G_1期, 其核DNA含量为2C; 进入S期后, DNA合成开始, 此时核DNA含量从2C变为4C; 当DNA合成结束后, 细胞进入G_2期并继续合成DNA, 直到进入M期, G2期核DNA含量是4C; M期细胞发生有丝分裂, 形成两个子细胞, DNA含量从4C变为2C, 它们可能进入下一个细胞周期, 也可能进入静止期(G_0)。细胞静止期(G_0)与DNA合成前期(G_1)的核DNA含量均为2C (唐国华和贺修胜2004)。正常种子发育和萌发过程中, 如DNA复制被抑制, 则G_0和G_1期的2C型细胞积累, 反之G_2期的细胞数增多, 表现为4C型细胞数增加(黄歆贤等2009)。质量低的种子, DNA修复时间长, DNA复制开始较迟, 因此可将4C:2C比率用于评估种子质量。本研究表明, Spm引发处理提高了超甜玉米不同发育时期种子萌发后胚根尖的4C:2C比率, 提高了该阶段细胞DNA复制的速度; 而Spd引发处理对超甜玉米种子萌发初期的DNA复制水平没有显著影响。

总体来看, Spd和Spm的引发处理能促进不同发育时期收获的甜玉米种子的萌发, 提高种子抗氧化酶活性, 提高幼苗各项生理指标。然而, 本研究还发现Spd和Spm在对提高甜玉米种子质量方面的作用有所差异, 值得进一步研究。

参考文献(References)

Borrell A, Carbonell L, Farras R, et al (1997). Polyamines inhibit liqid peroxidation in senescing oat leaves. Physiol Plantarum, 99: 385–390

Du HY, Hou XG, Liu HP (2010). Effect of seed soaking with spermidine on seed germinationand amylase activity of maize under osmotic stress. J Henan Agr Sci, (5): 8–10 (in Chinese with English abstract) [杜红阳, 侯小歌, 刘怀攀 (2016). 亚精胺浸种对渗透胁迫下玉米种子萌发和淀粉酶活性的影响. 河南农业科学, (5): 8–10]

El-Araby MM, Hegazi AZ (2004). Response of tomato seeds to hydro- and osmo-priming, and possible relations of some antioxidant enzymes and endogenous polyamine fractions. Egypt J Biol, 6: 81–93

Farooq M, Basra SMA, Hussain M, et al (2007). Incorporation of polyamines in the priming media enhances the germination and early seedling growth in hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.). Int J Agri Biol, 30 (3): 6–9

Farooq M, Basra SMA, Rehman H, et al (2008). Seed priming with polyamines improves the germination and early seedling growth in fine rice. J New Seeds, 9 (2): 145–155

Farooq M, Wahid A, Lee DJ (2009). Exogenously app1ied po1yamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. Acta Physiol Plant, 31: 937–945

Feng Z, Guo A, Feng Z (2003). Amelioration of chilling stress by triadimefon in cucumber seedlings. Plant Growth Regul, 39: 277–283

Fu YY, Ma WG, Cao DD, et al (2016). Effects of polyamines on seed germination, maturity and maturation. Seed, 35 (5): 52–58 (in Chinese with English abstract) [付玉营, 马文广, 曹栋栋等(2016). 多胺对种子萌发生长及成熟的影响. 种子, 35 (5): 52–58]

Gao XX, Yin JM, Lu YC, et al (2017). Study on physiological regulation mechanism of endogenous nitric oxide and apoplastic reactive oxygen species in wheat seedlings. Plant Physiol J, 53 (4): 695–704 (in Chinese with English abstract) [高晓霞, 殷金梅, 陆昱成等(2017). 小麦幼苗内源一氧化氮与胞间活性氧生理调控机制的研究. 植物生理学报, 53 (4): 695–704]

Huang XX, Zhu SJ, Li YP, et al (2009). The relationship between nuclear DNA replication and seed quality. Seed, 28 (12): 54–55 (in Chinese with English abstract) [黄歆贤, 祝水金, 李永平等(2009). 细胞核DNA复制与种子质量的关系. 种子, 28 (12): 54–55]

Huang YT, Lin C, He F, et al (2017). Exogenous spermidine improves seed germination of sweet corn via involvement in phytohormone interactions, H_2O_2 and relevant gene expression. BMC Plant Biol, 17: 1

Kausar M, Mahmood T, Basra SMA, et al (2009). Invigoration of low vigor sunflower hybrids by seed priming. Int J Agric Biol, 11 (5): 521–528

Kusano T, Berberich T, Tateda C, et al (2008). Polyamines: essential factors for growth and survival. Planta, 228: 367–381

Li J, Xu JG, Lin C, et al (2016). Effect of priming on germination and physiological characteristics of different types of corn seeds under low-temperature stress. Plant Physiol J, 52 (2): 157–166 (in Chinese with English abstract) [李洁, 徐军桂, 林程等(2016). 引发对低温胁迫下不同类型玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响. 植物生理学报, 52 (2): 157–166]

Li Z, Xu JG, Gao Y, et al (2017). The synergistic priming effect of exogenous salicylic acid and H_2O_2 on chilling tolerance enhancement during maize (*Zea mays* L.) seed germination. Front Plant Sci, 8: 1153

Lu LN, Xie JJ, Wang QW, et al (2017). Effect of alternative respiratory pathway on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence characteristics under NaCl stress. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 37 (6): 1175–1181 (in Chinese with English abstract) [芦丽娜, 谢佳佳, 王庆文等(2017). NaCl胁迫下交替呼吸途径对叶绿素含量及其荧光特性的影响. 西北植物学报, 37 (6): 1175–1181]

Matilla AJ (1996). Polyamines and seed germination. Seed Sci Res, 6 (3): 81–93

Murray GA (1990). Priming sweet corn seed to improve emergence under cool conditions. HortScience, 25 (2): 231–242

Nejad-Alimoradi F, Nasibi F, Kalantari KM, et al (2018). Spermine pre-treatment improves somephysiochemical parameters and sodium transporter gene expression of pumpkin seedlings under salt stress. Russ J Plant Physiol, 65 (2): 222–228

Rajjou L, Duval M, Gallardo K, et al (2012). Seed germination and vigor. Annu Rev Plant Biol, 63: 507–533

Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, et al (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci, 164: 317–322

Sheteiwy M, Shen HQ, Xu J, et al (2017). Seed polyamines metabolism induced by seed priming with spermidine and 5-aminolevulinic acid for chilling tolerance improvement in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Environ Exp Bot, 137: 58–72

Sliwinska E (2009). Nuclear DNA replication and seed quality. Seed Sci Res, 19 (1): 15–25

Song L, Hong DJ, Ge ZD, et al (2006). Effect of different chemical treatments on seed germination and seedling growth of sweet corn. Hangzhou Agric Sci Technol, (5): 13–15 (in Chinese) [宋亮, 洪狄俊, 葛忠德等(2006). 不同化学药剂处理对甜玉米种子萌发及幼苗生长的影响. 杭州农业科技, (5): 13–15]

Tang GH, He XS (2004). Standardization and control of flow cytometry for detecting DNA content in cells. Chin Physi J, (S1): 278–280 (in Chinese) [唐国华, 贺修胜(2004). 流式细胞仪检测细胞DNA含量技术的标化与控制. 中国医师杂志, (S1): 278–280]

Wu FB, Zhang GP, Dominy P (2003). Four barley genotypes respond differently to cadmium: liqid peroxidation and activities of antioxidant capacity. Environ Exp Bot, 50: 67–78

Zheng YY, Cao DD, Zhang S, et al (2008). Effects of polyamines on cold tolerance and germinating ability of maize seeds during imbibition. Acta Agron Sin, 34 (2): 261–267 (in Chinese with English abstract) [郑昀晔, 曹栋栋, 张胜等(2008). 多胺对玉米种子吸胀期间耐冷性和种子发芽能力的影响. 作物学报, 34 (2): 261–267]

Effects of spermine and spermidine priming on the germination quality of supersweet corn seeds with different maturity levels

CAO Dong-Dong[1,4], HUANG Yu-Tao[1], QIN Ye-Bo[3], LUO Ying[2], GUAN Ya-Jing[2], HU Jin[2,*]

[1]*Institute of Crop and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021, China*

[2]*Seed Science Center, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*

[3]*Crop Management Bureau, Agricultural Department of Zhejiang Province, Hangzhou 310020, China*

[4]*Huzhou Keao Seed Company Co.Ltd, Huzhou, Zhejiang 313000, China*

Abstract: Poor seed quality severely affects the germination rate and seedling growth of sweet corn seeds and even reduces the yield. In this study, 0.1 mmol·L^{-1} and 0.5 mmol·L^{-1} spermidine (Spd) and spermine (Spm) solution were used as priming chemicals to study their effects on seed germination and seedling growth of supersweet corn seeds with different maturity levels. The results showed that, in comparison with no priming (CK_1) and water priming (CK_2), priming with 0.1 mmol·L^{-1} and 0.5 mmol·L^{-1} Spm significantly increased germination percentage and germination energy of seeds collected at 18, 22, 26, and 30 days after pollination (DAP). Compared with CK_1, 0.5 mmol·L^{-1} Spd treatment significantly increased the germination percentage of 18, 22, 26 and 30 DAP seeds. As compared with CK_1, Spd and Spm priming at both concentrations and water priming (CK_2) significantly increased the germination index of 18–30 DAP seeds. Spd and Spm priming treatments increased seedling quality and chlorophyll *a* and chlorophyll *b* content in seedling leaves. Spd and Spm priming both increased the activities of CAT, SOD and POD in seeds. Spd significantly reduced the leached nucleic acid content of sweet corn seeds with different maturity levels. Spm treatment significantly increased the cell numbers with ratio of 4C to 2C and increased the level of DNA replication in the root cells of embryos, however the effect of Spd treatment was not significant. Spd and Spm priming treatments could promote the germination of supersweet corn seeds harvested at different maturation stages and increase the antioxidant enzyme activities of the seeds and various physiological parameters of the seedlings. However, the effects of the two polyamines on different quality parameters were different. In the case of germination, Spm had better effects than that of Spd, especially at 0.5 mmol·L^{-1}.

Key words: supersweet corn; spermine; spermidine; seed germination; seedling quality; priming

Received 2018-09-03 Accepted 2018-11-20

This work was supported by the National Key Research and Development Project of China (2018YFD0100900 and 2018YFD0100800), the National Natural Science Foundation of China (31671774), Dabeinong Funds for Discipline Development and Talent Training in Zhejiang University, and Jiangsu Collaborative Innovation Center for Modern Crop Production.

*Corresponding author (jhu@zju.edu.cn).