

# 不同含水量甜玉米种子抗老化作用及其机理\*

陈鹏<sup>a</sup>, 李玉红<sup>b</sup>, 王 绮<sup>b</sup>

(西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 采用人工老化法研究了不同含水量甜玉米种子在老化过程中的活力变化及生理特性, 检测了含水量为 39.5~104.0 g/kg 老化甜玉米种子的发芽率、种子脱氢酶和淀粉酶活性以及丙二醛含量等指标。结果表明, 不同含水量的甜玉米种子抗老化劣变的能力不同。甜玉米种子含水量降至 39.5 g/kg, 能显著提高抗老化劣变的能力。另外, 不同含水量的甜玉米种子 POD 同工酶谱不同。

**[关键词]** 甜玉米; 人工老化; 脱氢酶; 淀粉酶; 丙二醛; POD

**[中图分类号]** Q 946; S513.024

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2005)04-0079-04

种子含水量和贮藏温度是种子安全贮藏期间保持生活力和活力的关键因素。目前, 植物种子资源保存的最佳手段是在低温或超低温库中进行贮藏<sup>[1]</sup>, 而低温库投资大, 技术含量高, 常年运转费用昂贵。尽管种子在低温库中贮藏可以大大延长种子的寿命, 但随着贮藏时间的延长, 种子发生老化和劣变, 活力下降, 生理生化特性发生改变, 进而影响种质资源的安全贮藏和适时更新<sup>[2,3]</sup>。种子老化是自然界的普遍现象, 也是农业生产中的一个严重问题。有关种子老化及劣变的研究, 在禾谷类作物种子上虽有报道, 但以不同含水量的种子为试材研究的还很少。本研究以秦甜一号甜玉米种子为材料, 采用高温人工老化法对不同含水量种子老化过程中的活力变化与生理特性进行了研究, 以期探明造成种子老化及劣变的主要原因, 对种质资源的安全保存及生产上提高种子活力提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

甜玉米种子, 品种为秦甜一号, 发芽率为 84%, 含水量为 104.0 g/kg, 由陕西省杨凌农城种业提供。

### 1.2 方法

1.2.1 种子的干燥及保存 采用硅胶室温干燥法。将甜玉米种子分装于若干个纱布袋中, 封口, 埋入干燥器内充分干燥的硅胶中, 硅胶与种子质量比为 20:1。每天更换经 120℃ 充分烘干冷却后的硅胶,

种子于室温下分别脱水处理 20~60 d 不等。取出不同含水量的种子, 密封于双层铝铂袋中, 另取原始含水量的种子 2 袋作为对照, 也密封于双层铝铂袋中, 室温保存 1 年。

1.2.2 种子含水量的测定 根据《农作物种子检验规程》<sup>[4]</sup>, 采用高温烘干法, 测得种子含水量分别为 39.5, 74.5, 79.0 和 104.0 g/kg。

1.2.3 种子人工老化 把密封于双层铝铂袋中室温保存 1 年的种子(即含水量分别为 39.5, 74.5, 79.0, 104.0 g/kg)放入干燥器中, 置于 50℃ 培养箱中老化 20 d, 老化过程中种子的含水量由于密封而得以保持。为了便于比较, 以含水量 104.0 g/kg 的原始种子为 CK(未老化处理)。

1.2.4 种子回湿处理 将经过老化处理的不同含水量的甜玉米种子置于盛有饱和 CaCl<sub>2</sub> 水溶液的干燥器内(相对湿度 38%), 室温下回湿处理 1 d, 然后转移至盛有饱和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液的干燥器内(相对湿度 79%)回湿处理 1 d, 取出后室温放置。

1.2.5 种子发芽率测定 参照《农作物种子检验规程》<sup>[4]</sup>, 采用纸间发芽法, 于 25℃ 恒温箱中发芽, 第 9 天统计发芽率。

1.2.6 电导率测定 分别选取不同含水量种子各 2 g(粒数相同), 用无离子水冲洗 3 次, 用滤纸吸干表面水分, 加 20 mL 蒸馏水在室温下浸泡, 用 DDS-307 型电导仪每隔 4 h 测定种子浸泡液的电导率, 重复 3 次。

1.2.7 脱氢酶活性测定 分别取不同含水量甜玉

\* [收稿日期] 2004-06-10

[基金项目] 杨凌生物技术育种中心项目; 西北农林科技大学青年基金项目

[作者简介] 陈 鹏(1972-), 男, 陕西富平人, 讲师, 博士, 主要从事生物化学和分子生物学研究。

米种子 30 粒, 浸泡 12 h, 剥下胚, 每 10 粒胚设 1 个重复, 称重后放入 15 mL 试管中, 加入质量分数为 0.1% TTC 溶液 10 mL, 盖上盖子, 摇匀, 置于 35

恒温箱(黑暗)中染色 3 h, 然后用水冲洗干净, 用滤纸吸干水分, 置于盛有 10 mL 无水乙醇的试管中, 于 35 恒温箱(黑暗)中浸提 24 h 后, 摇匀, 在 485 nm 下比色, 以 OD 值表示种子脱氢酶活性。

1.2.8 淀粉酶活性测定 将不同含水量甜玉米种子萌发 2 d, 剥下胚, 取 5 粒称重, 3 次重复。淀粉酶活性参照文献[5]的方法测定。

1.2.9 丙二醛含量测定 参照林坚等<sup>[6]</sup>的方法测定。

1.2.10 POD 同工酶电泳 对萌发 2 d 的种子胚进行过氧化物酶同工酶测定。分离胶为 7.2%, 浓缩胶为 4%, 用抗坏血酸-联苯胺染色法染色<sup>[7]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 人工老化对甜玉米种子发芽率的影响

由表 1 可知, 含水量为 104.0 g/kg 的甜玉米种子经人工老化后, 其发芽率大幅度下降, 而含水量

39.5~74.5 g/kg 的种子与未经过老化处理的原始种子发芽率无显著差异。表明不同含水量的甜玉米种子抗老化劣变的能力不同。

### 2.2 人工老化对甜玉米种子淀粉酶活性的影响

甜玉米种子为典型的淀粉性种子, 活力高的种子淀粉酶活性也高。不同含水量甜玉米种子经人工老化处理后, 淀粉酶活性的测定结果(表 1)表明, 含水量为 39.5~74.5 g/kg 的老化种子淀粉酶活性与对照无显著差异, 而含水量为 104.0 g/kg 的种子淀粉酶活性最低, 含水量为 79.0 g/kg 的种子淀粉酶活性则介于 74.5 g/kg 和 104.0 g/kg 之间, 此结果与发芽率的测定结果相一致, 说明种子老化后引起种子体内生理生化特性较大的改变。

### 2.3 人工老化对甜玉米种子生物膜透性的影响

表 1 结果表明, 经过老化处理的含水量为 79.0 g/kg 的种子外渗液的电导率值最高, 而经过老化处理的含水量为 104.0 g/kg 的种子外渗液电导率值最低, 其余含水量种子外渗液的电导率值介于二者之间。

表 1 甜玉米老化种子发芽率、电导率、酶活性及 MDA 含量的变化

Table 1 Changes of Germination rate, conductance rate, enzyme activity and MDA content of sweet corn aged seeds

含水量/ (g · kg <sup>-1</sup> ) Moisture content	发芽率/% Germination rate	淀粉酶活性/ (mg · g <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup> ) Amylase activity	电导率/(μs · cm <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> ) Conductivity				脱氢酶活性/ (OD <sub>490</sub> ) Dehydro- genase activity	MDA 含量/ (μmol · L <sup>-1</sup> ) MDA content
			4 h	8 h	12 h	24 h		
104.0	4 C	0.14 C	63.8	90.6	113.3	170.0	0.031 C	0.826 A
79.0	60 B	0.25 B	97.2	132.7	174.4	252.2	0.230 B	0.566 B
74.5	77 A	0.37 A	96.8	134	164.3	240.3	0.214 B	0.581 B
39.5	85 A	0.44 A	81.0	118.6	137.3	195.7	0.483 A	0.436 C
CK	84 A	0.42 A	74.4	103.8	124	165.7	0.227 B	0.658 B

注: 大写字母不同者差异显著, 相同者差异不显著。

Note: A, B, C: significant at 5% level

### 2.4 人工老化对甜玉米种子脱氢酶活性的影响

甜玉米种子脱氢酶活性测定结果(表 1)表明, 经过老化处理的不同含水量种子(含水量为 39.5~104.0 g/kg), 其脱氢酶活性随含水量的上升而急剧下降, 其中含水量为 39.5 g/kg 的老化种子脱氢酶活性最高, 比未经过老化处理的对照种子(含水量 104.0 g/kg)活性高近 2 倍, 是经过相同老化处理的含水量为 104.0 g/kg 种子脱氢酶活性的 15 倍左右。结果表明, 含水量为 39.5 g/kg 的种子有利于脱氢酶活性的保持。

### 2.5 人工老化对甜玉米种子抗脂质过氧化的影响

一般来说, 丙二醛(MDA)是脂质过氧化产物,

随着劣变的发生逐渐积累, 其含量的高低可反映种子中脂质过氧化程度。由表 1 可知, 含水量为 39.5% 的老化种子丙二醛含量显著低于其他种子。因此, 从脂质氧化的角度来看, 含水量 39.5 g/kg 的种子具有较高的抗老化劣变能力。

### 2.6 人工老化对甜玉米种子 POD 同工酶酶谱的影响

POD 同工酶测定结果(图 1)表明, 不同含水量老化种子的 POD 同工酶谱不同, 其中含水量为 39.5 g/kg 的甜玉米种子的酶带最多(7 条), 且染色最深, 而含水量为 104.0 g/kg 的甜玉米种子酶带极不明显, 含水量为 74.5 和 79.0 g/kg 的甜玉米种子

酶谱介于二者之间。表明含水量为 39.5 g/kg 的种子具有较强的清除自由基的能力。

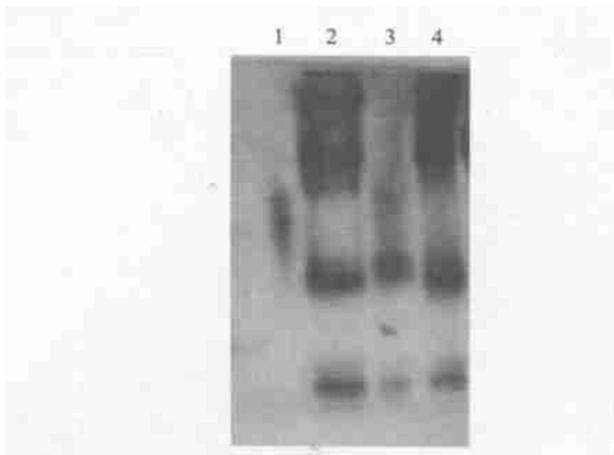


图1 人工老化后甜玉米种子的 POD 同工酶酶谱  
1~4 含水量分别为 104.0, 39.5, 74.5 和 79.0 g/kg  
的老化甜玉米种子

Fig. 1 The POD isozyme patterns  
in aged seeds of sweet corn

1-4 expressed as aging sweet corn seeds with  
moisture content 104.0, 39.5, 74.5, 79.0 g/kg

### 3 讨论

1) 干燥种子在常温或低温条件下活力下降很慢,为了缩短试验时间,一般采用高温老化来研究种子的耐藏性。本研究结果表明,不同含水量甜玉米种子抗老化劣变能力不同,含水量越高种子越不耐贮存,种子的老化和劣变程度越剧烈,而随含水量的降低,种子抗老化和劣变的能力增强,含水量为 39.5 g/kg 的甜玉米种子表现出较好的抗老化和劣变能力,具有较好的耐藏性。

2) 有关种子劣变与膜透性的关系研究报道很多,多数研究表明,种子浸出液的电导率与种子活力的相关性显著<sup>[8]</sup>,但也有相反的报道,如小麦和水稻种子浸出液的电导率与种子活力不相关<sup>[9]</sup>。本研究结果表明,甜玉米种子电导率的变化没有规律性,种子浸出液的电导率与种子活力关系并不密切,不能

用来衡量种子活力的大小。因此,种子活力测定的指标选用应根据不同作物种子的特性而定。

3) 脂质过氧化是种子劣变的重要原因<sup>[11]</sup>,膜脂过氧化最终产物丙二醛(MDA)会严重损伤生物膜<sup>[10]</sup>。MDA的积累来自不饱和脂肪酸的降解,它的生成是体内自由基引发而产生的。MDA具有强交联性质,能与氨基酸或游离氨基蛋白质、磷脂酰乙醇胺及核酸结合,形成类脂褐色素(LPP),LPP是干扰细胞内正常生命活动代谢的不溶性化合物。MDA能与蛋白质结合,引起蛋白质分子内和分子间的交联及生物膜中结构蛋白酶的聚合和交联,使它们的结构功能和催化功能发生变化而受到破坏<sup>[9]</sup>。由于丙二醛是脂质过氧化产物,且随着劣变发生逐渐积累,因此可预测种子的劣变程度。本研究结果表明,不同含水量的甜玉米种子经老化处理后丙二醛含量不同,其中含水量为 39.5 g/kg 的老化种子丙二醛含量最低,这说明超干处理降低种子的含水量,同时也可以大大降低MDA的积累,从脂质氧化的角度证明了种子的低含水量,可以使种子的贮藏性能得以提高。

4) 在种子萌发过程中,POD的活性增加<sup>[11]</sup>。在禾谷类种子中,POD存在于胚和糊粉层中,种子发芽率与种子幼根维管束内的POD活性有关<sup>[11]</sup>。另外,POD对各种不良环境十分敏感,是一种诱导酶,可和其他酶共同作用,清除体内的活性氧等有害物质,延缓衰老过程。POD同工酶可以作为判断伤害程度与植物抗性大小的指标<sup>[11]</sup>。在甜玉米种子萌发的过程中,不同含水量的老化种子POD同工酶酶谱表现不同,活力高的种子其POD同工酶谱带较多,而活力低的种子POD同工酶谱带很少,这一方面与种子的萌动状态有关,另一方面说明活力高的种子具有较强的抗老化劣变能力。POD酶带的增加有助于种子在不良环境下的抗逆性。本研究结果表明,含水量为 39.5 g/kg 的甜玉米种子活力明显高于未经老化处理的对照种子,也高于其他含水量的种子,说明其抗老化劣变能力较强。

### [参考文献]

- [1] 胡家恕,朱福成,曾广文.超干红花种子抗老化作用及其机理[J].植物生理学报,1999,25(2):171-177.
- [2] 乔燕祥,高平,马俊华.两个玉米自交系在种子老化过程中的生理特性和种子活力变化的研究[J].作物学报,2003,29(1):123-127.
- [3] Priestly D A, Murray D D M, Carllid P D D. Tocopherol and oryanic free radical levels in soybean seeds during natural and accelerated aging[J]. Plant Physiology, 1980, (66): 715-719.

- [4] 国家技术监督局 农作物种子检验规程[M]. 北京: 中国标准出版社, 1995. 62- 64
- [5] 黄学林, 陈润政 种子生理实验手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990. 110- 112
- [6] 林 坚, 郑光华 超干贮藏杜仲种子的研究[J]. 植物学通报, 1996, 13(增刊): 58- 62
- [7] 胡能书, 万国贤 同工酶电泳技术及其应用[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985
- [8] Hill H J, Talor A G, Huang X L. Seed viability deteminations in cabbage utilizing sinapine leakage and electrical conductivity measurements[J]. Jour Exp Bot, 1988, 39: 1339- 1447.
- [9] 杨建平, 唐玉林 小麦种子衰老的生理生化分析[J]. 种子, 1995, 75(2): 13- 14
- [10] 杨淑慎, 高俊凤 活性氧、自由基与植物的衰老[J]. 西北植物学报, 2001, 21(2): 215- 220
- [11] 吴明江, 于 萍 植物过氧化物酶的生理作用[J]. 生物学杂志, 1994, (6): 14- 16

## Studies on aging-resistance of sweet corn seeds with different moisture contents and its mechanism

CHEN Peng<sup>a</sup>, LI Yu-hong<sup>b</sup>, WANG Qi<sup>b</sup>

(*a College of Life Sciences; b College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China*)

**Abstract:** To investigate aging-resistance and its mechanism, physiological characteristics and vigor changes of sweet seeds with different moisture contents were studied using artificial aging method. Germination rate, the activity of dehydrogenase activity and amylase and malonadehyde (MDA) content of sweet corn seeds with 39.5- 104.0 g/kg of moisture content were studied. The results showed seeds with different moisture content were different in aging-resistance. Sweet corn seeds became more tolerant to aging condition when they were dried to 39.5 g/kg of moisture content. The isozymes of POD were different in sweet corn seeds with different moisture contents.

**Key words:** sweet corn; artificial aging; dehydrogenase; amylase; MDA; POD