油青菜心和黄瓜吸胀种子对高压静电场的反应

曹永军, 习 岗, 杨初平, 宋 清 (华南农业大学 理学院, 广东广州 510642)

摘要:分别对吸胀的油青菜心和黄瓜种子进行不同场强相同时间和同一场强不同时间的高压静电场处理.测定了处理后的种子发芽势、脱氢酶和过氧化物酶活性、可溶性蛋白含量以及种子超弱发光.结果显示高压静电场处理显著提高种子活力,促进种子萌发.经高压静电场预处理的种子萌发后,种子的超弱发光较对照明显增强,并且种子超弱发光的变化与生理生化指标的变化具有明显相关性。表明超弱发光可作为一种准确、快捷、灵敏的物理指标,用于对种子最佳电场处理剂量的筛选.

关键词: 高压静电场(HVEF); 吸胀种子; 酶活性; 超弱发光 中图分类号: 0689 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2005)02-0073-04

Reactions of imbibed Chinese cabbage and cucumber seeds to high-voltage electrostatic field

CAO Yong-jun, XI Gang, YANG Chu-ping, SONG Qing (College of Sciences, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642 China)

Abstract: The effect of high-voltage electrostatic field on the germinating energy, dehydrogenase and POD activities soluble protein content and super-weak luminescence for Chinese cabbage and cucumber imbibed seeds treated with different dosages was looked at. The test results indicated that high-voltage electrostatic field had obvious effect in improving seed vigor and seed germination, and the super-weak luminescence of seeds treated with high-voltage electrostatic field became significantly stronger. The changes in super-weak luminescence, physiological and biochemical indices showed significant correlation, indicating that super-weak luminescence could be an accurate, fast and sensitive physical means in choosing the optimal electric field treatment dose for seeds.

Key words: high-voltage electrostatic field; imbibed seeds; enzyme activity; super-weak luminescence

种子作为有生命的生物体,体内各种代谢反应都包含大量的电活动,因此用电场对种子进行处理可能是提高种子活力的一种有效方法.种子吸胀萌发时酶开始活化,膜结构恢复,生理代谢活动旺盛,种子对外界物理环境刺激的反应最为敏感^[1],此时对种子施加电场处理可能效果最佳.有很多研究显示高压静电场处理干种子可以提高种子活力,促进种子萌发,继而影响作物后期的生长发育^{2~5]},但吸胀种子对高压静电场的反应研究较少,因此,笔者采用高压电场短时处理吸胀萌动的油青菜心和黄瓜种

子,通过测定不同电场剂量处理后的种子发芽势、脱氢酶活性(TTC 法)、种子萌发后过氧化物酶活性及可溶性蛋白含量等反映种子活力及代谢强度的生理生化指标的变化,研究了高压静电场短时处理对吸胀蔬菜种子活力及萌发的影响.同时,为了能探究一种更好的筛选最佳电场处理剂量的新方法,还测定了经不同电场剂量处理后萌发种子的超弱发光强度,通过比较不同处理种子超弱发光与发芽势及酶活性等生理生化指标之间的相关性,以探究超弱发光作为一种快捷、灵敏、非破坏性的筛选最佳电场处

收稿日期: 2004-02-12

作者简介: 曹永军(1977—), 男, 硕士. 通讯作者: 习岗(1957—), 男, 教授; E-mail: xi-

gangchao @tom. com

理剂量的方法的可行性,并为电场技术在农业生产中的广泛应用提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 材料与处理方法

供试的油青菜心 Brassica campetris (美青一号)和 黄瓜 Cucumis sativus (粤秀二号)由广东省农科院蔬菜 研究所提供. 高压静电场由自制的电场处理装置产 生. 该处理装置主要由静电发生器和1对上、下2块 平行搁置的直径为1m的铝板组成, 在静电发生器 中采用闭环调整的高频脉宽调制技术, 经多级倍压 整流得到直流高压,其输出电压可在0~100 kV 之间 自由选择连续可调. 输出的电压加在铝板电极上,在 两铝板之间形成一个电场连续可调的均匀电场区 域. 处理时分别将平板电极的上极板和下极板接静 电发生器"十"极输出和"一"极输出,形成自上而下 的正向电场. 极板间距离固定为 10 cm, 通过调节输 出电压产生不同强度的电场. 根据种子吸胀速度的 差异,油青菜心和黄瓜种子分别吸胀 12 和24 h,单层 平铺于下极板中央位置, 以克服边缘效应, 再经不同强 度电场处理, 然后置于发芽床上萌发, 设 2 kV/cm、 10 min, 4 kV/cm, 10 min, 6 kV/cm, 10 min, 6 kV/cm, 5min, 6 kV/cm、15 min, 6 kV/cm、20 min 6 个处理剂量, 另设对照,剂量为0.

1.2 试验指标的测定

1.2.1 发芽势的测定 将吸胀种子经不同处理后以常规方法进行发芽试验,设 5 次重复,每重复 100 粒种子.油青菜心于第 2 d,黄瓜于第 3 d 分别计算发芽势.

1.2.2 酶活性与可溶性蛋白含量测定 油青菜心与黄瓜干种子吸胀后按上述电场剂量处理,分别于处理后 12 和 24 h 采用 TIC 定量法测定萌发种子脱氢酶活性,参照胡晋 $[^{q}]$ 的方法,酶活性以每克种子每小时反应生成的 TTdH 质量 $(\text{mg °h}^{-1} \circ \text{g}^{-1})$ 表示. 油青菜心和黄瓜种子分别在经电场处理后萌发的第 2 d 和第 4 d 测定过氧化物酶 (POD) 活性及可溶性蛋白含量. POD 活性测定采用愈创木酚法 $[^{7}]$,以萌发种子每克鲜质量每分钟 $D_{470\,\mathrm{mm}}$ 变化 $[^{1}]$,以前发种子每克鲜质量每分钟 $D_{470\,\mathrm{mm}}$ 变化 $[^{1}]$,可溶性蛋白含量测定用考马斯亮蓝 $[^{1}]$ 。 $[^{1}]$ 。 $[^{1}]$,以前发种子每克鲜质量所含的蛋白质量表示 $[^{1}]$,以上指标的测定均设 $[^{1}]$ 次重复.

1.2.3 萌发种子超弱发光的测量 种子的超弱发光采用中国科学院生物物理研究所研制的 BPCL 微弱发光测量仪进行测量.测量时分别于处理后第 2 d

和第4d称取油青菜心与黄瓜萌发种子1g平铺于测量杯中测量不同处理萌发种子的发光强度,连续计量3min,得出每分钟发光的平均值,减去本底(空测量杯的发光强度)即为萌发种子的发光强度,发光强度用每分钟所发光子数(C°min⁻¹°g⁻¹)表示.为减少测量时杂散光对超弱发光的影响,超弱发光的测量在黑暗中进行.

1.2.4 数据分析 方差分析均采用 ISD 方法.

2 结果与分析

2.1 高压静电场处理对吸胀种子发芽势的影响

从表 1 看出,油青菜心和黄瓜种子经高压静电场处理后,可不同程度提高发芽势.油青菜心种子的提高幅度为 7.75%~26.50%,处理条件4 kV/cm、10 min, 6 kV/cm、5 min 和6 kV/cm、15 min 与对照相比,差异都达到极显著水平(P<0.01),其中6 kV/cm、10 min增幅最大;处理条件2 kV/cm、10 min和6 kV/cm、20 min与对照比,差异也达显著水平(P<0.05). 黄瓜种子发芽势提高 1.60%~5.60%,以处理条件6 kv/cm、15 min 增幅最大,与对照差异达极显著水平(P<0.01),6 kV/cm、10 min 和 6 kV/cm、5 min 处理组与对照比,差异达显著水平(P<0.05).

表 1 高压静电场处理对吸胀种子发芽势的影响

Tab. 1 Effect of high-voltage electrostatic field on the germinating energy of imbibed seeds %

	油青菜心Chinese cabbage		黄瓜 cucumber	
处理	发芽势	增加值	发芽势	增加值
trea tm ent	germinating	increase	germinating	increase
	energy	rate	energy	rate
对照 control	70. $8\pm$ 1. 8	0.00	72.4 \pm 0.8	0.00
2~kV/ cm, $10~min$	78.6 \pm 1.8	7. 75 *	74. 2 ± 0.8	1.80
$4~kV/\ \text{cm},\ 10\ \text{min}$	93. 0 ± 1.0	22. 25 **	74. 0 ± 1 . 2	1.60
6~kV/ an, $10~min$	97. 2 ± 1 . 5	26. 50 **	74.6 \pm 0.5	2.20 *
6 kV/ cm, 5 min	95.0 \pm 0.7	24. 25 **	75.4 \pm 0.5	3.00 *
6 kV/ αm , 15 min	94.8 \pm 0.8	24. 00 **	78.0 \pm 1.4	5.60 **
6 kV/ cm, $20 min$	82.8±1.9	12. 00 *	74. 2±0. 8	1.80

2.2 高压静电场对吸胀种子酶活性和可溶性蛋白 含量的影响

高压静电场短时预处理对油青菜心和黄瓜种子萌发过程中脱氢酶、POD 活性和可溶性蛋白含量的影响分别见表 $2\sim4$. 本试验结果显示,高压静电场处理能提高种子体内脱氢酶和 POD 的活性. 油青菜心种子体内脱氢酶活性提高 $17.82\%\sim110.70\%$,各处理组与对照相比,差异均达极显著水平 (P<0.01),以 6~kV/cm、5~min,6~kV/cm、10~min 和 6~kV/cm、15~min 处理提高幅度最大,分别达

109.58%、110.70%和100.19%, 黄瓜种子脱氢酶活 性提高 1.81%~42.92%, 其中 6 kV/cm、10 min, 6 kV/cm、15 min 和 6 kV/cm、20 min 处理与对照相比。 差异极显著(P<0.01); 2 kV/cm、10 min 和 6 kV/cm、 5 min处理组与对照比差异也达显著水平(P<0.05). 经电场处理过的油青菜心种子 POD 活性提高 9.75% ~54.24%, 处理条件 6 kV/cm、5 min 与对照相比, 差 异极显著 (P < 0.01), 6 kV/cm、10 min, 6 kV/cm、15 min 和 6 kV/cm、20 min 处理与对照相比差异显著 (P<0.05). 黄瓜种子 POD 活性增加 22.09% ~ 64.78%,与对照差异也均达显著或极显著.油青菜 心种子可溶性蛋白含量各处理组比对照增加 4.91% ~20.61%, 处理条件 6 kV/cm、10 min 增加幅度最大 (20.61%),与对照组差异达极显著(P < 0.01),处理 条件 6 kV/cm、5 min, 6 kV/cm、15 min 和 6 kV/cm、 20 min与对照比, 差异达显著水平(P<0.05), 各处理 组的黄瓜种子可溶性蛋白含量对比对照也有类似增 长.

表 2 高压静电场处理对吸胀种子脱氢酶活性的影响 Tab. 2 Effect of high voltage electrostatic field on dehydrogenase activity of imbibed seeds

	油青菜心Chinese cabbage		黄瓜 cucumber	
处理	脱氢酶活性	增加值	脱氢酶活性	增加值
	dehydrogenase	increase	dehy drogenase	increase
treatment	activity	rate	activity	rate
	/ (mg°h ⁻¹ °g ⁻¹)	1% /	$(\mathrm{mg^{\circ}h}^{-1}^{\circ}\mathrm{g}^{-1})$	/ %
对照 control	0.629 ± 0.014	0.00	0.569 ± 0.008	0.00
2 kV/cm, $10 min$	0.741 ± 0.004	17. 82 **	0.614 ± 0.018	7.85 *
$4\ kV/\ cm$, $10\ min$	0.988 ± 0.003	27.0.	0.580 ± 0.010	1.81
$6~kV/\ cm$ $10~min$	1. 326 ± 0.016	110. 70 **	0.679 ± 0.010	19.26 **
6 kV/cm, $5 min$	1. 319 ± 0.008	109. 58 **	0.670 ± 0.012	17.62 *
$6~kV/\ em,\ 15~min$	1. 259 ± 0.007		0.741 \pm 0.008	30.15 **
6 kV/cm, $20 min$	0.783 ± 0.010	24. 48 **	0.814 ± 0.012	42.92 **

表 3 高压静电场处理对吸胀种子 POD 活性的影响 Tab. 3 Effect of high voltage electrostatic field on the activity of POD of imbibed seeds

对照 control	POD activity	increase rate/ ½ /	POD 活性 POD activity (U °g ⁻¹ °min ⁻¹)	increase
対照 control 2 kV/cm 10 min 4 kV/cm 10 min 4 kV/cm 10 min 4	U°g ⁻¹ °min ⁻¹)	rate/ % /	(U °g ⁻¹ °min ⁻¹)	rate/ %
对照 control 2 kV/cm 10 min 1 4 kV/cm 10 min 1 6 kV/cm 10 min 1 1				
2 kV/cm 10 min 14 kV/cm 10 min 16 kV/cm 10 min 1	143.71 ± 3.60	0.00		
4 kV/cm, 10 min 1 6 kV/cm, 10 min 1		0.00	204.66 ± 10.19	0.00
6 kV/cm, 10 min	157.72 ± 8.04	9. 75	249.87 ± 13.51	22.09 *
	164.01 \pm 7.62	14. 12	272.00 ± 5.33	32.90 *
	187.36±14.06	30. 37 *	337.23 ± 7.04	64.78 **
6 kV/cm, 5 min 2	221.67±4.71	54. 24 **	310.44 ± 12.42	51.68 *
6 kV/cm, 15 min	182.27±11.31	26. 83 *	329.63 ± 9.92	61.06 **
6 kV/cm, 20 min		20. 47 *	271.65 ± 12.66	32.73 *

表 4 高压静电场处理对吸胀种子可溶性蛋白含量的影响

Tab. 4 Effect of high-voltage electrostatic field on the soluble protein content of imbibed seeds

	油青菜心Chinese cabbage		黄瓜 cucumber	
处理	w(可溶性蛋白	增加值	w(可溶性蛋白	增加值
treatment	soluble protein)	increase	soluble protein)	increase
	$/(\mathrm{mg}^{\circ}\mathrm{g}^{-1})$	$\mathrm{rat}\mathrm{e}^{\!/}\%$	$/(\mathrm{mg}\mathrm{^{\circ}g}^{-1})$	rat e/ %
对照 control	51.35 ± 1.50	0.00	21.36 ± 0.31	0.00
2~kV/ cm, $10~min$	53.87 ± 2.96	4. 91	23.48 ± 0.78	9.94 *
4~kV/ cm, $10~min$	53.89 ± 1.97	4. 95	24.67 ± 0.62	15.50 *
6~kV/ cm, $10~min$	61.93 ± 1.08	20. 61 **	26.21 ± 0.85	22.71 **
6 kV/cm, $5 min$	57.62 ± 1.30	12. 22 *	25.44 ± 0.46	19.12 **
6~kV/ cm, $15~min$	$57.83\!\pm\!1.52$	12. 67 *	26.47 ± 0.54	23.93 **
6 kV/cm, 20 min	57.03 ± 1.58	11.07 *	27.77 ± 0.46	29.99 **

高压静电场对种子超弱发光的影响及与其他 2.3 指标间的相关性

高压静电场处理对油青菜心和黄瓜种子的超弱 发光的影响见表 5. 无论是油青菜心还是黄瓜, 各处 理组较对照超弱发光强度都有所增加. 经电场处理 后油青菜心萌发种子发光强度较对照增加 2.98%~ 38. 92 %, 发光最强组为 6 kV/cm、10 min. 黄瓜种子 发光强度处理组较对照增加 6.40%~16.73%,发光 最强为 6 kv/cm、15 min. 比较发现,油青菜心与黄瓜 种子的超弱发光强度变化与种子发芽势、酶活性和 可溶性蛋白含量的变化趋势基本一致. 油青菜心种 子超弱发光与种子发芽势、脱氢酶活性、POD活性、 可溶性蛋白含量之间的相关系数r分别为0.8220、 0.8969、0.8428和0.9522; 黄瓜种子超弱发光与种子 发芽势、脱氢酶活性、POD活性、可溶性蛋白含量之 间的相关系数 r 分别为0.7422、0.8884、0.7285和 0.9567. 均呈显著正相关 $(n = 7, \alpha = 0.05, r =$ 0.7067).

表 5 高压静电场处理对种子超弱发光的影响

Tab. 5 Effect of high-voltage electrostatic field on the superweak lumines cence of imbibed seeds

	油青菜心Chinese cabbage		黄瓜 cucumber	
处理	发光强度	增加值	发光强度	增加值
treatment	counts/	increase	counts/	increase
	$(C \circ min^{-1} \circ g^{-1})$	rat e/ 1/0	$(\mathrm{C} \circ \mathrm{min}^{-1} \circ \mathrm{g}^{-1})$	rat e/ ½
对照 control	1 274	0.00	2515	0.00
2 kV/cm, $10 min$	1 3 12	2. 98	2676	6.40
4~kV/ cm, $10~min$	1 388	8.96	2703	7.47
6 kV/cm, 10 min	1770	38. 93 **	* 2795	11.14 *
6 kV/cm, $5 min$	1 675	31. 51 **	2 7 5 1	9.40 *
6 kV/cm, 15 min	1 561	22. 56 *	2936	16.73 *
6 kV/ cm, 20 min	1 491	17. 09 *	2930	16.50 *

3 讨论

试验结果显示, 高压静电场处理油青菜心和黄 瓜吸胀种子,能提高种子活力,促进了种子的萌发. 有研究认为静电场对种子的作用机理可能是由于外 加电场改变了种子体内生物膜电位,引起细胞内极 性分子和金属离子的定向排列,使与生物膜结合的 酶构象发生变化,激活了体内各种参与代谢合成的 酶等活性物质,启动一系列生化反应,加快了种子体 内营养物质的转化分解和各种功能蛋白的合成,从 而表现出不同的生理代谢和生长发育特性 9. 本试 验对脱氢酶、POD活性及可溶性蛋白含量的测定也 具有相似的结果, 另外, 不同电场处理条件(电场强 度、处理时间)对油青菜心和黄瓜种子活力及萌发的 影响程度不同,存在一个最适剂量范围,油青菜心为 6 kV/cm、5~10 min, 黄瓜则为6 kV/cm、10~20 min. 看来, 电场对吸胀种子的作用存在"阈值效应", 处理 剂量必须达到一定阈值时才会对作物产生作用,这 一点对电场农业应用技术的开发具有重要意义.

虽然电场的生物学效应已得到广泛认可,但还未能作为一项农业新技术进行推广,其关键就在于没有找到一种准确、方便、快捷的方法挑选出一个最佳的处理剂量. 植物超弱发光是一种来自活细胞的电磁信号,其主要来源于细胞内的核酸合成反应和发生在细胞膜上的氧化还原过程,超弱发光作为一种准确、灵敏反映植物体内代谢强弱的物理指标已广泛应用于植物生理生化的研究[10]. 本试验发现吸胀的油青菜心与黄瓜种子经过电场处理后,萌发种子的超弱发光增强,而且超弱发光最强组也是酶活性等生理生化指标综合比较的最高组,种子的超弱

发光与代表种子活力和发芽力的各种生理生化指标存在显著相关性,表明超弱发光有可能作为一种灵敏、快捷、活体检测的物理指标,应用于对作物电场处理最佳剂量的筛选,从而推进电场技术在农业生产中的应用研究.

参考文献:

- [1] 中山包.发芽生理学[M].马云彬译.北京:农业出版 社,1988.264-265.
- [2] 晨 阳,文 卫,何宝胜.静电场对早熟禾种子萌发的 影响[]].中国草地,1999,(6):70-71.
- [3] 王 莘,李肃华,史焕之,等. 高压静电场对月见草种子 萌发期表观特性的影响[J]. 吉林农业大学学报,1997,19(3):109—112.
- [4] 王淑惠,黎先栋,宋长铣. 高压静电场处理小麦种子对幼苗生长和有关化学成分的影响[J]. 生物化学与生物物理进展,1991,18(5);392—393,399.
- [5] 马福荣, 温尚斌, 王锡禄, 等. 静电场处理人参种子对参苗生长及产量的影响[3]. 东北师范大学学报(自然科学版), 1994, (3): 333—336.
- [6] 胡 晋. 对种子活力测定方法-TTC 定量法的改进[J]. 种子, 1986. (6): 71—73.
- [7] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社,2002. 120-121.
- [8] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 184-185.
- [9] 李晓光,任露泉,佟 金,等. 静电场对绿豆种子综合生物性状的影响及机理探讨[J]. 吉林工业大学自然科学学报,2001,31(2):40-44.
- [10] 习 岗. 植物超弱发光及其在农业上的应用[J]. 物理, 1994, 23(9): 548-552.

【责任编辑 李晓卉】