

激素浸种对薄壳山核桃种子萌发的影响及其种子吸胀过程中 SOD 和 POD 活性变化

李小飞, 邓秋菊, 曹凡, 梁有旺, 张瑞, 何海洋, 苏文川, 彭方仁^①

(南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037)

Effect of phytohormone soaking on seed germination of *Carya illinoensis* and change in SOD and POD activities during its seed imbibition process LI Xiaofei, DENG Qiuju, CAO Fan, LIANG Youwang, ZHANG Rui, HE Haiyang, SU Wenchuan, PENG Fangren^① (College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2016, 25(2): 111-113

Abstract: By using $L_9(3^3)$ orthogonal experimental design, effects of type, mass concentration and soaking time of phytohormones on seed germination of *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch were studied, and changes in SOD and POD activities were analyzed during its seed imbibition process. The result of orthogonal experiment shows that compared with the control, soaking seed with different mass concentrations of IAA, GA_3 and 6-BA at different times can improve germination rate and decrease rot rate of seeds. In which, phytohormone mass concentration has the greatest influence on germination rate, while seed soaking time has no significant effect on it. According to the experimental results, it is preliminarily determined that suitable soaking condition for seed germination of *C. illinoensis* is soaking seeds for 3 d with $200\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 . In addition, SOD and POD activities increase obviously during seed imbibition process, in which, SOD activity appears the trend of first increasing and then decreasing, while POD activity increases continuously.

关键词: 薄壳山核桃; 激素质量浓度; 浸种条件; 发芽率; 种子吸胀; 酶活性

Key words: *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch; phytohormone mass concentration; seed soaking condition; germination rate; seed imbibition; enzyme activity

中图分类号: Q945; S644.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2016)02-0111-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2016.02.14

薄壳山核桃[*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch]为胡桃科(Juglandaceae)山核桃属(*Carya* Nutt.)植物,又名美国山核桃、长山核桃,是世界上著名的经济树种之一^[1-2]。目前,主要采用本砧嫁接的方法培育薄壳山核桃良种嫁接苗,而培育优质实生苗作为砧木是该技术的关键环节之一,因此,了解其种子萌发特性极为重要。目前,对薄壳山核桃种子萌发特性的研究主要集中在植物激素催芽方面^[3-5],而有关激素催芽过程中的适宜浸泡天数、种子吸胀过程中相关的酶活性变化等问题尚不明确。

作者采用正交实验设计摸索不同激素种类(IAA、 GA_3 和6-BA)、不同激素质量浓度(100、200和 $300\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和不同浸种时间(1、3和5 d)对薄壳山核桃种子萌发的影响,并对薄壳山核桃种子吸胀过程中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活性变化进行分析,旨在探明薄壳山核桃适宜的激素浸种条件以及种子吸胀过程中抗氧化酶活性的变化,为薄壳山核桃的优质实生苗培育提供基础实验数据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试薄壳山核桃种子购自美国德克萨斯州;种子果型指数2.0、千粒质量2 525 g、单果质量2.4 g、出仁率40%、含水率12.8%、净度99.4%、优良度95.7%、生活力91.4%。选取种仁饱满无霉变、虫蛀和损坏的种子供试。

1.2 方法

1.2.1 激素浸种的正交实验设计及种子发芽指标测定 按 $L_9(3^3)$ 设计3因素3水平正交实验,3因素为激素种类、激素质量浓度和浸种时间,其中激素种类的3水平为IAA、 GA_3 和6-BA,激素质量浓度的3水平为100、200和 $300\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,浸种时间的3水平为1、3和5 d;以清水浸种为对照。每处理组设3次重复,每重复50粒种子;每天更换1次处理液(包括清水)。浸种结束后,吸干种子表面水分,均匀点播到装有厚约

收稿日期: 2015-09-28

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201304711); 江苏省林业三新工程项目[Lysx2014(047)]; 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

作者简介: 李小飞(1989—),男,安徽马鞍山人,硕士研究生,主要研究方向为经济林栽培与育种。

^①通信作者 E-mail: fipeng@njfu.edu.cn

8 cm 沙层的塑料盒内,播种前将沙面整平,并用质量体积分数 0.5% KMnO_4 溶液浇透;置于温度 28 $^{\circ}\text{C}$ 、空气相对湿度 70% 的人工气候室中,覆盖保鲜膜并保持沙床湿润,待种子发芽率超过 50% 时揭去保鲜膜。

播种 10 d 后,每 2 天观测并记录种子发芽数,以种子发出的芽尖突破沙层表面为萌发标准。播种 50 d 后,按照公式“发芽率=(萌发种子粒数/供试种子粒数) \times 100%”、“发芽势=(种子萌发达到高峰时萌发种子粒数/供试种子粒数) \times 100%”和“烂种率=(霉烂种子粒数/供试种子粒数) \times 100%”分别计算各处理组的发芽率、发芽势和烂种率。

1.2.2 种子吸胀过程中 SOD 和 POD 活性测定 选择 300 粒健康饱满种子,用清水浸种,并在浸种的 0 (CK)、3、8 和 13 d 时分别取出 15 粒种子,参照 GB 2772—1999 的方法破壳取胚,用于超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性测定;其中,SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法^{[6]180-181},POD 活性

测定采用愈创木酚染色法^{[6]182-183}。每个指标均重复测定 3 次,结果取平均值。

1.3 数据处理

用 EXCEL 2007 和 DPS 数据处理软件对实验数据进行图表处理、方差分析和多重对比(LSD 法);采用极差分析法(R 法)对正交实验结果进行极差分析。

2 结果和分析

2.1 不同激素浸种处理对薄壳山核桃种子萌发的影响

不同激素种类、质量浓度和浸种时间对薄壳山核桃种子萌发影响的正交实验结果见表 1。由表 1 可见:各处理组的发芽率和发芽势均高于对照,且烂种率低于对照,其中发芽势的差异达极显著水平,表明激素浸种有利于提高薄壳山核桃种子的发芽率和发芽势、降低烂种率。各处理组中,T8 处理组

表 1 激素浸种处理对薄壳山核桃种子萌发影响的正交实验结果($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 1 Result of orthogonal experiment of effect of phytohormone soaking treatments on seed germination of *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 ²⁾ Treatment ²⁾	因素及水平 Factor and level			发芽率/% Germination rate	发芽势/% Germination energy	烂种率/% Rot rate of seed
	激素种类 Phytohormone type	激素质量浓度/mg·L ⁻¹ Mass concentration of phytohormone	浸种时间/d Soaking time			
CK	—	—	—	61.7 \pm 1.4Cc	38.3 \pm 4.2De	25.0 \pm 1.9Aa
T1	IAA	100	1	69.0 \pm 3.8BCcd	59.3 \pm 2.5Cede	17.7 \pm 3.7Abab
T2	IAA	200	3	83.3 \pm 8.3ABab	76.3 \pm 5.3ABab	7.3 \pm 1.1BCcd
T3	IAA	300	5	81.3 \pm 5.1ABab	68.7 \pm 2.3ABCbc	11.3 \pm 4.4ABCbcd
T4	GA ₃	100	3	85.7 \pm 3.1Aa	79.7 \pm 2.6Aa	8.3 \pm 3.2 BCcd
T5	GA ₃	200	5	83.3 \pm 3.7ABab	77.3 \pm 1.6ABa	15.3 \pm 3.7ABCabc
T6	GA ₃	300	1	75.3 \pm 4.8ABCabc	66.3 \pm 1.4BCcd	14.0 \pm 3.3ABCbc
T7	6-BA	100	5	62.0 \pm 5.0Cc	57.0 \pm 4.1Ce	19.7 \pm 5.7Aa
T8	6-BA	200	1	86.3 \pm 2.2Aa	78.7 \pm 3.9Aa	3.3 \pm 4.3Cd
T9	6-BA	300	3	72.0 \pm 2.6ABCbcd	58.3 \pm 2.1Cde	21.3 \pm 1.7Aa
X ₁	77.9	72.2	76.9			
X ₂	81.4	84.3	80.3			
X ₃	73.4	76.2	75.5			
R	8.0	12.1	4.8			

¹⁾ 同列中不同的大写和小写字母分别表示差异极显著($P<0.01$)和显著($P<0.05$) Different capitals and small letters in the same column indicate the extremely significant ($P<0.01$) and significant ($P<0.05$) differences, respectively.

²⁾ X₁, X₂, X₃: 分别表示同一因素同水平处理组的发芽率平均值 Representing the average of germination rate of the same level treatment group in the same factor, respectively; R: 极差 Range.

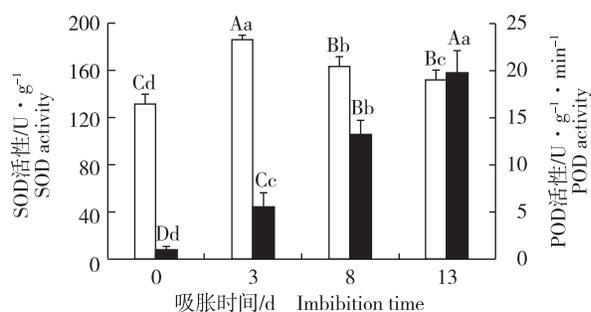
(200 mg·L⁻¹ 6-BA 浸种 1 d) 的种子发芽率最高,为 86.3%;且烂种率最低,仅为 3.3%。极差(R)分析结果显示:激素质量浓度对薄壳山核桃种子发芽的影响最大($R=12.1$),其次为激素种类($R=8.0$),浸种时间的影响相对最小($R=4.8$)。从激素质量浓度看,用 200 mg·L⁻¹ 激素浸种的种子平均发芽率最高,其次为 300 mg·L⁻¹,用 100 mg·L⁻¹ 激素浸种的种子平均发芽率最低,分别比对照组(CK)提高了 36.6%、23.5% 和 17.1%。从激素种类看,用 GA₃ 浸种的种子平均发芽率最高,

其次为 IAA,用 6-BA 浸种的种子发芽率最低,分别比对照组(CK)提高了 32.0%、26.2% 和 19.0%。浸种时间对种子发芽率影响不显著,总体上浸种时间以 3 d 为宜。以种子发芽率为考察指标优选最佳处理组合,表明用 200 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种 3 d 最适宜于薄壳山核桃种子的萌发。

2.2 薄壳山核桃种子吸胀过程中抗氧化酶活性的变化

薄壳山核桃种子吸胀过程中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的变化见图 1。由图 1 可见:SOD 和 POD

活性呈现不同的变化趋势,在吸胀0~8 d时SOD活性明显高于POD活性,而在吸胀13 d时POD活性高于SOD活性。SOD活性在吸胀起始时(0 d)较高,并在吸胀3 d时达到最高(186.0 $U \cdot g^{-1}$),之后降低,在整个吸胀过程中SOD活性呈先升高后降低的变化趋势且均高于吸胀起始时的活性,差异达极显著水平($P < 0.01$)。POD活性在吸胀起始时很低,但在吸胀过程中逐渐升高,且升高的速率随吸胀进程而加快,在吸胀13 d时达到最高(19.9 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$),且在整个吸胀过程中POD活性的差异均达到极显著水平。



□: SOD活性 SOD activity; ■: POD活性 POD activity.

不同的大写和小写字母分别表示同一酶活性在不同时间差异极显著($P < 0.01$)和显著($P < 0.05$)。Different capitals and small letters indicate the extremely significant ($P < 0.01$) and significant ($P < 0.05$) differences in activity of the same enzyme at different times, respectively.

图1 薄壳山核桃种子吸胀过程中SOD和POD活性的变化
Fig. 1 Change in SOD and POD activities during imbibition process of seeds of *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch

3 讨论

休眠期薄壳山核桃种子的萌芽会受到抑制,通常在自然环境条件下存在种子萌发期推迟和发芽率不稳定等现象^[5]。而植物生长调节剂是一类具有植物激素活性的有机物质,对植物的生长发育具有促进或抑制作用^[7],外源植物激素GA₃和6-BA能够促进三岛柴胡(*Bupleurum falcatum* Linn.)^[8]和枸杞(*Lycium chinense* Mill.)^[9]等种子的萌发,而IAA也能显著提高种子的萌发能力^[10]。本研究结果显示:植物激素处理对薄壳山核桃种子萌发也具有一定的促进作用,其中,激素质量浓度对其发芽率有显著影响,激素种类的影响效应次之,浸种时间对薄壳山核桃种子萌发无显著影响;其中,经不同质量浓度GA₃处理的种子发芽率最高,IAA次之,经6-BA处理的种子发芽率最低,但均显著高于对照组(清水浸种)的种子发芽率。因此,若要提高种子的发芽率应选择合适的植物激素及激素质量浓度,而浸泡时间也是影响种子发芽的重要因素。通过上述正交实验,初步确定适宜于薄壳山核桃种子的激素浸种条件为200 $mg \cdot L^{-1}$ GA₃浸泡3 d。

在浸种过程中干燥种子迅速恢复代谢活性,完成胚轴伸长的准备过程,为幼苗生长打下基础^[10]。种子萌发过程是从吸胀开始的^[11];风干种子的生理活动非常微弱,处于相对静止即休眠的状态;在有足够水分、适宜温度和正常通气的条件下,种子开始萌发^[12]。种子的吸水过程是种子与外界环境相适应的结果,而了解种子吸水过程中抗氧化酶活性变化可以更深入和全面地获悉种子萌发特性^[13]。由本实验结果可知:抗氧化酶活性变化与薄壳山核桃种子的吸胀进程有关,在薄壳山核桃种子的吸胀过程中其SOD和POD活性变化趋势有一定差异,POD活性持续升高,SOD活性呈先升高后降低的变化趋势,但在吸胀过程中二者的活性均显著高于吸胀初期。在种子吸胀过程中,酶活性的升高可能与呼吸作用等各类代谢作用增强以及脂肪酸代谢和脂肪酸的 β 氧化增强等有关。但薄壳山核桃种子吸胀过程中SOD和POD活性升高的具体原因有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 彭方仁,李永荣,郝明灼,等. 我国薄壳山核桃生产现状与产业化发展策略[J]. 林业科技开发, 2012, 26(4): 1-4.
- [2] LOMBARDINI L. One-time pruning of pecan trees induced limited and short-term benefits in canopy light penetration, yield, and nut quality[J]. HortScience, 2006, 41(6): 1469-1473.
- [3] 究攀,曹凡,王克春,等. 国外种源薄壳山核桃种子催芽试验研究[J]. 江苏林业科技, 2013, 40(4): 5-7, 33.
- [4] 李淑芳,杨建华,范志远,等. 不同处理对美国山核桃种子发芽的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2011, 28(3): 444-449.
- [5] 李俊南,熊新武,习学良,等. 植物激素对薄壳山核桃种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 经济林研究, 2013, 31(1): 81-86.
- [6] 张治安,陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春: 吉林大学出版社, 2008.
- [7] 毛景英,闫振领. 植物生长调节剂调控原理与实用技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [8] 赵胜利,索建政,陈力众. 植物激素对三岛柴胡种子萌发的影响[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(12): 715-717.
- [9] 柴淳,黎云祥,陈光登,等. 外源植物激素对宁夏枸杞种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2010, 28(5): 149-153.
- [10] BEWLEY J D, BRADFORD K J, HILHORST H W M, et al. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy [M]. 3rd ed. New York: Springer, 2013.
- [11] 钱春梅,宋松泉,伍贤进,等. 绿豆种子吸胀过程中脱水耐性变化的时间模式[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(S2): 104-111.
- [12] BOGDANOVIĆ J, RADOTIĆ K, MITROVIĆ A. Changes in activities of antioxidant enzymes during *Chenopodium murale* seed germination[J]. Biologia Plantarum, 2008, 52(2): 396-400.
- [13] 张桂红,贺学礼. 8种缙蒿属植物种子吸水 and 萌发特性[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2008, 28(5): 536-541.

(责任编辑:郭严冬)