

# 萌发马铃薯实生种子超弱发光与种子活力关系的研究

陈有君 蒙美莲 李立民

(内蒙古农牧学院中心实验室 呼和浩特 010018)

## 摘 要

由于种子的成熟度及藏年限的不同,使不同年度采收种子的活力之间有很大差异,其发芽后的整种子及其粉碎后的提取液的发光也有很大差异,发芽4~16天的整种子发光强度与种子的发芽率及发芽指数之间的相关达到了显著或极显著的水平。其提取液发光强度的变化曲线因萌发天数的不同而有规律的变化,低发芽率或发芽天数少于4天的种子提取液的发光强度的变化趋势是平滑下降,随着发芽天数的增加,高发芽率种子提取液的发光强度出现了峰谷变化,而低活力种子的发光强度的变化趋势则仍然是平滑下降。说明发芽后的整种子或其提取液的发光与原样的代谢活性密切相关,提取液中的发光物质的浓度和发芽的天数有关。

**关键词** 实生种子, 提取液, 超弱发光, 发芽率, 发芽指数

## 1 前 言

很多生命过程都有超弱发光现象的伴生,如DNA的合成,细胞的有丝分裂,细胞的吞噬,以及细胞的正常代谢等。一般认为脂质的氧化或自由基的反应是发光的重要原因之一,并且发光强度会随着环境条件的变化而变化。因此很早就有人把它作为一项指标用于抗寒、抗冷的研究。董加伦等(1991)把超弱发光用于作物抗旱性的研究,认为抗旱强的品种其超弱发光也高<sup>[1]</sup>。Grabikowski等(1988)发现不抗冷的芸苔在受冷解冻过程中,其发光变化速度

比抗冷品种快<sup>[2]</sup>。Murkowski等(1973)认为极端的环境条件会破坏还原剂向结构脂类的运输,并启动氧化链,使得抗性低的品种的发光强度增强<sup>[3]</sup>。这表明,当植物处于逆境时,其超弱发光会发生改变。但是,这些改变中,哪些变化与有益反应相联系,哪些与有害反应相联系,生物体内的哪些变化会使发光增加,哪些变化又会使发光降低,则需要进一步研究。我们在研究中发现,萌动4天的种子,其研磨提取液的发光强度与种子的贮藏年限成反比<sup>[4]</sup>。一般随着贮藏年限的增加,种子的活力会降低,说明提取液发光与种子的活力有一定的关系。为了进一步探讨提取液的发光与种子活力的关系,我们开展了超弱发光与种子活力关系的研究。

感谢我院农学系门福义教授和刘梦芸教授提供实验材料。

## 2 材料与amp;方法

### 2.1 材料

不同年度采收的马铃薯实生种子, 品种是克疫。种子的采收年度为: 1979, 1980, 1983, 1984, 1985, 1986, 1988, 1989 和 1990 年。

### 2.2 方法

选大小均匀的种子 100 粒, 称重后, 放于培养皿中, 于暗处发芽。每天用蒸馏水冲洗一次, 并观察记录发芽情况, 统计发芽率。于第 1, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 和 16 天测定带芽的整种子及其提取液的发光强度。每次处理选用 6 个年度的种子, 其中 1, 3, 5, 14 天的处理是用的 1983, 1985, 1986, 1988, 1989 和 1990 年的, 其余用的是 1979, 1980, 1983, 1984, 1985 和 1986 年的。

整个萌发种子, 在测定的前一天用多层报纸包好, 放于暗处。当天统计发芽率, 用蒸馏水洗 2 次后转入闪烁杯中, 避光放置 5 小时后测定发光。以空杯子的同时测定值作为本底值。

粉碎后提取液的发光强度的测定。测完整种子发光后, 用蒸馏水冲洗 2 次, 滤纸吸干后, 转入研钵中。于弱光下研至无粗纤维丝, 用 7ml 蒸馏水洗进离心管, 在暗室中离心 (4000 转/分) 30 分钟, 上清液全部转入闪烁杯中, 监测发光的变化, 以 7ml 蒸馏水的同时测定值作为本底值。

发光与种子发芽率及发芽指数之间的关系分析, 采用整次 (1, 2 或 -1, 1) 二项式, 逐步回归分析的方法, 计算发光强度或累计发光量与发芽指数及发芽率之间的相关系数。把发光强度及累计发光量与发芽指数或发芽率之间的相关系数都达到显著或极显著水平以上的时间范围列表。

### 2.3 仪器

(1) 美国 Beckman 公司的 LS-5801 液体闪烁计数仪, 用其单光子监测系统测定发光。(2) 北京医用离心机厂的 CDZ4-0.8 自动平衡离心机用于离心。

## 3 结果及amp;分析

### 3.1 萌发后整种子的发光与amp;种子活力的关系

#### 3.1.1 种子的活力

从表 1 中的数据可以看出各年度采收的种子的发芽率及发芽指数差异很大, 表明种子的活力差异很大。一般随着贮藏年限的增加, 种子的发芽率和发芽指数的总趋势降低, 但也因采收年度的不同而有波动, 其中以 1989 年种子的发芽率及发芽指数最高, 其次是 1988 年的, 这和卢弘斌等“马铃薯实生种子贮藏 4 年左右活力达到最高”<sup>[5]</sup> 的研究结果相一致。年度间种子活力波动的原因, 还有种子的饱满程度, 饱满的种子内部贮存的营养物质丰富, 其本身的活力就比较高, 抗逆性也比较强, 由于贮藏年限的延长对其活力的影响就较小。1984 和 1985 年采收的种子由于其千粒重比较高, 虽然经过了 7、8 年的贮藏发芽率仍然很高, 甚至高于 1990 的种子, 但其发芽指数却比较低, 说明发芽速度已经降低了, 贮藏时间较长仍然影响了它们的活力。相关分析表明, 种子的发芽率或发芽指数, 与种子的贮藏年限及千粒重之间的负相关系数达到了极显著 ( $P < 0.01$ ) 水平。

#### 3.1.2 发芽种子的发光与其活力之间的关系

从表 2 可以看出, 整种子的发光与种子的发芽率及发芽指数之间具有很好的相关性。当萌发时间在 3 天后, 整种子的发光与自身的发芽率及发芽指数之间的线性相关便

表 1 种子的基本情况

采收年度	1979	1980	1983	1984	1985	1986	1988	1989	1990
贮藏年限	13	12	9	8	7	6	4	3	2
千粒重	0.592 ±0.017	0.577 ±0.011	0.576 ±0.009	0.601 ±0.014	0.628 ±0.012	0.599 ±0.018	0.493 ±0.011	0.563 ±0.011	0.531 ±0.011
12天发芽率	5±2	1.5±0.5	3±2.6	95.6±1.5	96±2.1	32±7.2	96±2.3	98±1.0	87±3.5
12天发芽指数	0.613 ±0.382	0.188 ±0.029	0.342 ±0.245	13.84 ±0.192	14.26 ±1.46	4.99 ±1.34	17.65 ±0.418	19.81 ±1.31	16.52 ±0.892

表 2 整种子发光与种子发芽率及发芽指数之间的相关分析

发芽天数	3	4	5	6	8	10	12	14	16
与其自身发芽率	0.970**	0.820*	0.908*	0.923**	0.810	0.880*	0.982**	0.985**	0.979**
与其自身发芽指数	0.970**	0.820**	0.897*	0.916*	0.833*	0.877*	0.981**	0.822*	0.937**
与千粒重	0.572	0.454	0.625	0.897*	0.892*	0.450	0.744	0.931**	0.637
与12天发芽率	0.276	0.785	0.870*	0.962**	0.955**	0.875*	0.991**	0.902*	0.965**
与12天发芽指数	0.478	0.770	0.870*	0.969**	0.935**	0.872*	0.981**	0.918**	0.958**

注: \* 表示相关达到显著水平以上 ( $P < 0.05$ ;  $R = 0.811$ ), \*\* 表示相关达到极显著水平以上 ( $P < 0.01$ ;  $R = 0.917$ ), 下同。

达到了显著水平 ( $R > R_{0.05}$ ) 以上。发芽率高说明芽的总数多, 发芽指数高说明芽出的早, 且芽数多, 总的代谢强度高; 其发光强度也高, 指示发芽种子的发光与其代谢强度有正相关关系。

### 3.2 发芽种子研磨后水提液的发光与种子活力的关系

#### 3.2.1 萌发各时期, 不同贮藏年限种子研磨水提液发光的比较

图 1~6 中画出了 1983, 1985 和 1986 年采收的种子在萌发 1, 4, 6, 8, 12 和 16 天时, 提取液发光强度的变化趋势曲线, 及种子发芽指数 (图 1 是 12 日平均发芽指数) 高低比较, 可以看出发光强度的高低顺序基本与种子发芽率的高低次序相同。但当采用的年限比较多, 种子的基础情况又比较复杂, 萌发时间在 3 天及 3 天以内时, 发光强度的顺序与种子的活力顺序不完全一致。所以萌发日数在 4 天以前的种子, 其提取液的发光强度与 12 日的发芽率或发芽指数之

间的相关系数比较低。但从图中可以看出, 随着发芽天数的增加, 活力高的种子, 相对发光强度逐渐增加, 发光强度与活力的秩相关系数逐渐增加。如表 3 所示, 萌发 5 天时的发光强度与其本身发芽率或发芽指数之间的秩相关系数便是 1; 萌发 4 天时, 由于 1979, 1980 和 1983 年的种子发芽率都是 0, 所以与其自身发光的秩相关系数比较低, 但也达到了显著的相关水平以上。

表 3 提取液的发光强度与种子活力指标之间的秩相关

发芽天数	1	3	4	5
测发光时间	与其自身的发芽率			
0.5 小时	0	0	0.911*	0.943**
5 小时	0	0	0.880*	1**
	与 12 天平均发芽率			
0.5 小时	0.200	0.122	0.761	0.886*
5 小时	0.200	0.486	0.714	0.942**

注: 表中测发光的时间是指从研磨开始到测定时所经历的时间。

从图中看出, 1983 年采收种子的最高发光强度一般只有 20 000~30 000cpm, 出

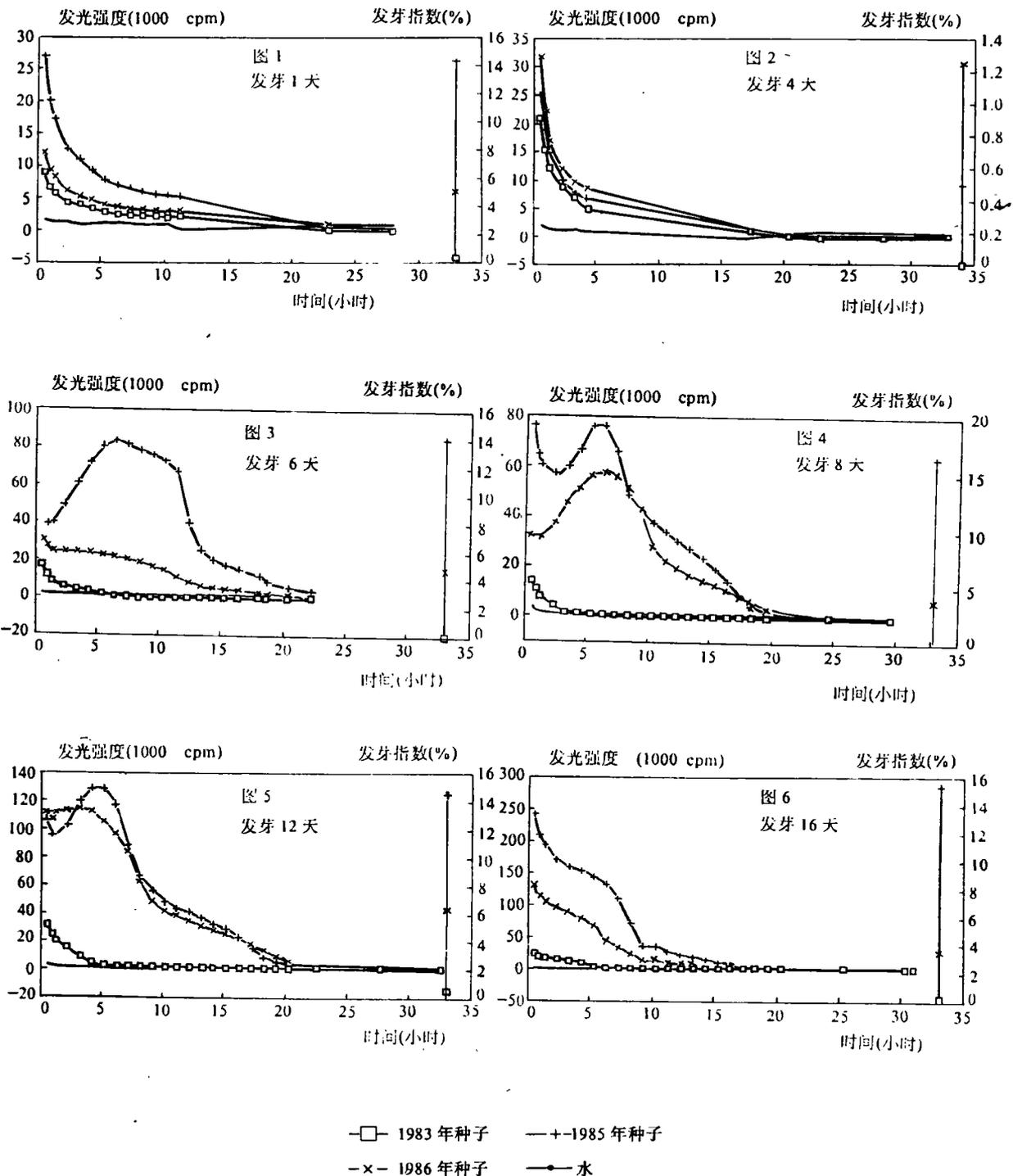


图 1~6 萌发种子提取液发光强度衰减趋势曲线

现在测量开始时, 在萌发天数不同时其也有波动, 但与其它种子相比其变化较小, 且没有规律的趋势, 峰值以后则平滑下降, 这是发芽率低及萌发时间在 4 天以前的种子的共同规律。可活力高的种子随着发芽时间的增加, 发光强度逐渐增加, 在发芽一定时间后(本试验中是 5 天), 其提取液的发光强度的变化曲线出现了峰值或拐点变化。最高发光强度不一定出现在测量开始时。

### 3.2.2 发芽种子提取液的发光强度与种子活力的相关分析

表 4 中列出了发芽率或发芽指数与发光强度(单位时间内的发光量)和累计发光量都达到显著或极显著相关水平以上的时间(从研磨开始至测定发光结束的时间)范围, 在此范围以外, 发光强度或某段时间范围内的发光量也有与发芽率或发芽指数之间

的相关达显著或极显著水平以上的, 例如发芽 5 天种子的提取液, 由开始测量时(开始研磨后 35 分钟左右)计算累计发光量, 那么在 48.5 小时以前的累计发光量与发芽率或发芽指数之间的相关也分别达到了极显著和显著的水平以上, 但 20 多小时以后的发光强度与发芽率及发芽指数之间的相关却没有达到显著或极显著水平以上。由表 4 看出, 发芽种子的提取液与种子发芽率及发芽指数之间都具有很好的相关关系, 尤其是与其自身的发芽率及发芽指数之间的相关关系更好, 从 4 天开始便表现出较好的相关性。说明提取液的发光强度与种子及芽粉碎前的活组织量有很密切的联系, 活组织量大, 则其提取液的发光强度就高, 提取液的发光在一定程度上反映了原样的生物活性的高低。

表 4 发光强度与活力指标达到显著或极显著相关的时间范围

发芽天数	4	5	6	8	12	14	16
( $P < 0.05$ )							
与自身发芽率	0-4.27	0-23.15	0-22.23	0-17.45	0-17.23	0-13.38	0-20.31
与自身发芽指数	0-4.27	0-23.15	0-22.23	0-17.45	0-17.23	0-10.38	0-20.31
与 12 天发芽指数		0-12.11	0-22.23	0-17.45	0-16.23	0-10.38	0-20.31
( $P < 0.01$ )							
与自身发芽率	0-1.27	1-13.48	0-22.23	0-15.45	0-15.23	0-10.38	0-13.25
与自身发芽指数	0-4.27	1-13.48	0-22.23	0-15.45	0-15.23	0-10.38	0-13.25
与 12 天发芽指数		10.23-11.3	2.3-30	0-16.45	4.2-6.2	0-3.8	0-13.25

注: 表中的时间范围是指在此期间内任意时刻的发光强度或累计发光量与种子活力指标之间都有显著或极显著相关关系。0 时是测量开始。

Commoner (1954) 发现冻干的生物样品中有自由基的存在, 并且自由基的浓度和材料的原始代谢活度紧密相关<sup>(6)</sup>。提取液中肯定也有与原始材料生物活性相关的自由基的存在。脂肪含量高的种子在其萌发过程中, 随着粗脂肪含量的降低, 其酸价增高, 游离脂肪酸的含量在增加。一般认为脂质尤其是脂肪酸在被自由基氧化过程中会有发光现象的发生。马铃薯实生种子是以脂肪为主要贮藏物质的。活力高的种子萌发数日后,

各种生命活性物质的活性逐渐恢复, 种子及幼芽的代谢活力逐渐增加, 提取液中的自由基和游离脂肪酸的含量也会逐渐增加, 发光便会增强。而活力低的种子, 因代谢强度低, 其提取液中的游离脂肪酸和自由基的含量便低, 发光强度的增加便小。如果提取液的发光确实是由自由基氧化脂肪酸而产生的, 那么说明在种子萌发的前期, 高活力种子的游离脂肪酸浓度增加的比较快, 而自由基的浓度增加的则比较慢, 所以在发芽一定

时间后, 提取液中的游离脂肪酸的浓度远高于自由基的浓度, 这时提取液的发光开始较低, 但由于脂质的自催化氧化过程中能使自由基加倍, 所以使反应速度逐渐增加, 发光增强; 当提取液中的游离脂肪酸的浓度与自由基的浓度达到一定的比例后, 反应速度达到最大, 发光强度达到峰值, 以后随着游离脂肪酸的浓度下降, 反应速度降低, 所以发光强度的变化曲线会出现峰值变化, 在萌发的后期由于自由基的浓度增高, 一开始反应速度就很高, 峰值不明显。另外提取液的发光强度随原样活力增加而增大的原因可能还和其中酶的活动有关, 活力高的种子, 酶的代谢活性也高, 酶的活动不但会增加自由基和游离脂肪酸的浓度, 还可能产生一些其它的发光物质, 有些酶促反应本身可能就有发光现象。

#### 4 小 结

①马铃薯实生种子的活力随着贮藏年限的增加会降低, 降低的速度和种子的成熟程

度及贮藏年限的长短有关; ②活力不同的种子其提取液的发光强度变化趋势也不同, 种子活力越高, 其提取液发光强度变化曲线出现峰值或拐点变化的可能性越大; ③马铃薯实生种子在萌发过程中, 从萌发的第4天开始, 整种子的发光或其粉碎后提取液的发光都与种子的发芽率及发芽指数之间有很好的正相关关系。

#### 参 考 文 献

- 1 董家伦、罗淑平、潘世禄等. 干旱地区农业研究. 1991年增刊, 植物超弱发光特征与抗逆性关系(专集) P9, 34, 47
- 2 Grabikowski E. Use of ultraweak biochemiluminescence studies of frost resistance of the rape cotyledons. *Cruciferage Newsletter* 1988, No. 13, 117
- 3 Murkowski A. Biochemiluminescence as an indicator of the physical condition of a plant and its resistance to extreme external environmental factors *postepy, Nauk Rolniczych*, 1973 No.4, 3~16
- 4 陈有君等. 马铃薯实生种子超弱发光规律的初步研究. *马铃薯杂志*, 1994, 1:6~11
- 5 卢弘斌等. 三种马铃薯TPS种子生活力测定. *马铃薯杂志*, 1993, 2: 99~103
- 6 方允中等. 自由基与酶——基础理论及其在生物学和医学中的应用. 科学出版社, 1989

## A STUDY ON THE ULTRA-WEAK LUMINESCENCE OF GERMINATED TRUE POTATO SEEDS

*Chen Youjun Meng Meilian and Li Limin*

(Inner Mongolia College of agriculture and Animal husbandary, huuhot 010018)

#### ABSTRACT

The vitality of true potato seeds collected in different years are different greatly because of the different degree of mature and the different numbers of years stored. The luminescence of germinated whole seed or its extract are also different greatly. The luminescence of seed germinated for 4~16 days are correlated significantly with germination percentage and germination index. The curve form of luminescence intensity of the extract changes regularly with the germinated days increasing. Those suggest that the luminescence intensity of germinated seed or its extract is correlated closely with the vigor of the original sample, and the concentration of luminescent substrate in the extract related to the germinated days.

**KEY WORDS:** super-weak luminescence, true potato seed, germination percentage, germination index, extract