

马铃薯实生种子超弱发光规律的初步研究*

陈有君 蒙美莲

(内蒙古农牧学院 呼和浩特 010018)

摘要

本文对马铃薯实生种子的超弱发光规律进行了初步研究, 结果发现, 不同品种的风干种子及其浸种过程中的超弱发光均有差异, 综合特性好的品种其种子的发光强度高。在浸种初期种子的发光强度最高, 在 12 小时内, 随着浸种时间的延长, 发光强度逐渐降低。萌发 96 小时左右时的种子, 研磨粉碎后提取液的发光强度与种子的储藏年限成反比。

1954 年, Colli 用高灵敏度的光电倍增管探测到了植物根发射出的微弱光。后来, Mamedob 调查了 80 种动植物(8 个类群), 发现都有不同程度的弱光发出, 由于光强很弱, 所以人们称之为超弱光。大量的研究发现, 这种光是波长在 360 ~ 800nm 范围内的冷光, 并且这种光和生物体的生理状态及其所处的环境密切相关。一般代谢旺盛的器官和组织, 如植物的根尖、萌动的种子及正在生长的幼苗等, 其发光的强度比较高, 抗逆性强的种子或其植株在逆境条件下, 发光强度也比较高。因而可以用超弱发光来鉴定生物体或其器官或组织的总体活性的高低。目前生物发光已作为一项生理指标广泛用于生物学研究及医学实践。在植物学领域, 人们把它用于植物抗逆(寒、冷、干旱和盐碱等)性以及杂种优势强弱的判定。另外生物发光又具有灵敏、简便的特点, 因此将其用于种子特性的鉴定将是一项很有应用前景的技术。

蒙美莲等(1988)研究了同薯 8 号等品种的马铃薯实生种子经储藏后的一些生理生化

特性的变化; 卢弘斌等(1993)也报道了马铃薯实生种子随着储存年限的延长, 其发芽率和发芽势的变化规律; 郭华春等(1989)研究并比较了 DTO-33 与克疫实生种子的化学成分及发芽特性。因此我们选用同薯 8 号比较了萌发种子提取液的超弱发光与种子储藏年限的关系, 选用 DTO-33 与克疫比较了浸种过程中发光的品种间差异。

1 材料方法

1.1 供试材料

为马铃薯实生种子, 品种为克疫, DTO-33 和同薯 8 号。

1.2 方法

1.2.1 浸种过程中超弱发光的变化规律研究

1986 年采收的克疫和 DTO-33 的风干种子, 称取 1.00g 于闪烁杯中, 于仪器内避光放置过夜, 测定干种子的发光, 然后加入 2ml 蒸馏水, 立即送入仪器内测定发光强度, 并随后监测浸种过程中发光值的变化规律。以 2 ml 蒸馏水的同时测定值作为本底。重复 3 次。

* 本研究是内蒙古自治区自然科学基金资助项目, 实验中得到了门福义和刘梦芸二位先生的大力支持和帮助

1.2.2 发芽后提取液的发光强度变化规律的研究

1974年、1981年和1986年采收的同薯8号风干种子(储藏年限分别是14、7和2年),称取0.3g于培养皿中,在室温(20℃)下发芽,分别在浸种后的25、48、72和96小时测定研磨提取液的发光。测前处理是:用蒸馏水冲洗3次,空干,转入研钵中,磨碎后用蒸馏水洗入离心管中,离心30分钟(LD5-10型离心机,北京医用离心机厂产,4000转/分),吸取上清液5ml放在闪烁杯中监测发光强度的变化。以5ml蒸馏水的同时

测定值为本底。

研钵及研磨开始后所用的蒸馏水均在冰水浴中预冷,研磨在冰浴中进行。

1.2.3 光强的测定

用Beckman LS-5801液体闪烁记数仪的单光子监测系统测定,测定及测前准备均在暗室中进行。

2 结果及分析

2.1 浸种过程中超弱发光的变化

表1 马铃薯实生种子浸种过程中的发光强度 (count/min)

品种	干种子	浸水后时间 (分)							
		1	2	4	60	720	1200	2100	2520
克疫	231	27118	23124	21696	21211	2721	2072	1290	1693
	±55	±4537	±3821	±3319	±2597	±292	±284	±534	±607
DTO-33	715	36812	29714	27012	24793	5363	4372	2880	2826
		±5731	±5893	±5845	±7010	±442	±314	±319	±703

从表1中可以看出,风干种子浸入水中后,在1分钟内,发光值比干种子增加了50~100倍。以后随着浸种时间的增加,发光值逐渐降低,直到10多个小时以后,趋于稳定值。两个品种的发光值的高低、浸水后发光值增加的倍数以及随浸种时间的延长发光值降低的速度都有差异。无论是干种子还是浸种过程中,都表现出DTO-33的发光值较高。造成这种差异的原因可能与种子的两方面的特性有关,一是形态特性,DTO-33种皮的颜色较浅,对外源光的吸收少,而克疫的种皮颜色较暗,对外源光的吸收较多,这尤其是对干种子的发光影响较大;另一是种质特性,据郭华春等(1989)的研究发现具有2n配子的品种DTO-33,其实生种子幼苗的很多生理特性都比克疫好,在20℃左右条件下的很多发芽特性也优于克疫。这说明马铃薯实生种子及其浸种过程中的发

光可能和种子某些生理特性有关,种质特性好的种子,其发光强度就高。另外DTO-33的粗脂肪的含量也比克疫高,这也可能是DTO-33发光较高原因之一。

2.2 萌发过程中提取液的发光

2.2.1 萌发96小时的种子提取液与种子储藏年限的关系

从表2和图1中可以看出,萌发种子的提取液的发光强度的变化曲线都呈单峰型,即在提取液由低温条件下进入室温条件下后,随着放置时间的延长,其发光强度开始逐渐升高,达到峰值后又逐渐下降,最后在10多个小时后达到对照水平。储藏年限不同的种子,其粉碎后水提液的发光强度变化曲线的峰值的大小及出现的早晚均不同。储藏2年的种子,发光值变化曲线的峰值大,在研磨粉碎后的6小时左右达到峰值;储藏7年的种子,其峰值较小,达到峰值的时间在2~4

表2 萌发96小时的种子水提液的发光变化 (count/min)

储藏年限	测时 (小时)							
	1.5	1.8	2	4	6	8	10	12
2	73769	77129	83705	116392	131761	111632	21814	4935
7	32107	35531	41211	40565	11911	2248	877	-18
14	18203	19261	19624	14278	2522	1056	667	141

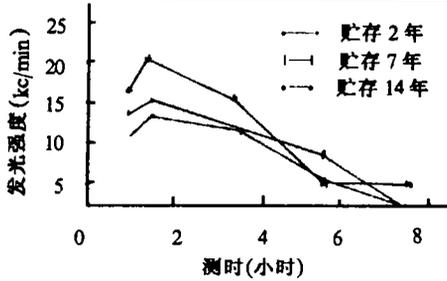


图1 发芽25小时后各测时的发光变化

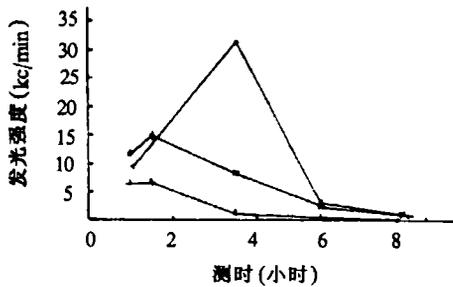


图2 发芽48小时后各测时的发光变化

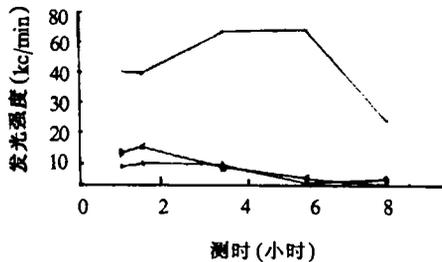


图3 发芽72小时后各测时的发光变化

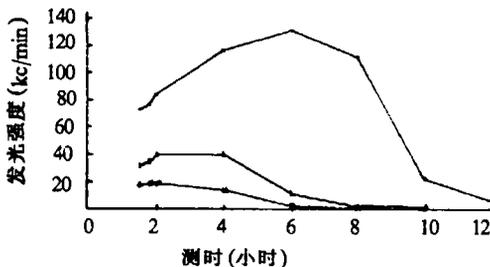


图4 发芽96小时后各测时的发光变化

小时;而储藏14年的种子,发光强度的峰值只是储藏2年的发光强度的1/7左右,最低,峰值出现在1.8~2小时左右。

造成这种现象的原因可能有两方面,一方面是温度的影响,研磨是在0℃的冰浴中进行的,而测量是在20℃的条件下进行的,所以开始测量时提取液的温度较低,发光强度也较低,随着在室温条件下放置时间的延长,提取液的温度逐渐接近室温,反应速度加快,发光值也逐渐升高。研究中我们发现,如果研磨和测量均在室温条件下进行时,对于储藏年限长或发芽时间短的种子的提取液,其发光值始终是逐渐降低的,也就是说在恒定的温度条件下提取液的发光强度最终总是要降低的,所以会出现升高又降低的变化趋势。对于测量初期及储藏年限长的种子的发光强度由低到高的变化,温度的影响可能是主要原因。另一方面原因则可能是由提取液内部物质组成所决定的,它是引起不同储藏年限的种子提取液的发光值差异的主要原因。一般认为超弱发光是由在自由基与脂质反应引起脂质氧化过程中以光辐射形式放出的能量,而在这一氧化过程中又能使自由基加倍产生,因此使氧化反应不但能持续下去,而且使反应加速,使脂质的浓度逐渐降低,当脂质浓度下降到一定程度后,反应速度又会变慢。因此提取液发光强度会出现如图4所示的单峰曲线的变化趋势。这说明储藏两年的种子,在发芽96小时左右时,其粉碎后的水提液中,能产生发光的脂类物质及自

由基的浓度都比较高, 所以其发光强度就比较高。另外提取液中还有很多反应在同时进行, 它们也会直接或间接对发光做出贡献。研究中我们发现在测到发光的同时, 提取液中会逐渐产生一些乳糜状的沉淀, 这些沉淀可能与部分或全部发光有关。提取液在低温条件下放置一定时间后, 也会出现了些乳糜状的沉淀, 除去沉淀后的液体的发光峰值则提前。

表3列出了上述提取液3ml在4℃下放

表3 提取液在4℃条件下放置5天后的发光变化 (count/min)

储藏年限	测时 (小时)			
	1	1.5	3.5	5.5
2	57257	62513	32457	6143
7	19430	22545	16986	3923
14	9064	9224	7216	5787

注: 测量时间是指从冰箱中取出到测定时所经历的时间

置5天, 离心除去沉淀后上清液的发光强度变化情况, 可以看出峰值均出现在进入室温后1.5小时左右。这说明表2中两小时以后发光值的增加可能与放置后的沉淀有关。表明提取液中可能存在着两类与发光有关的反应。一类是受温度影响相对较小的反应, 这些反应或本身就有发光作用, 或反应后产生发光物质或发光反应的条件, 如某些酶促反应、细胞器的解体、复合大分子的分解等, 放出游离的脂质, 或某些发光物质, 而这些反应又需要一定的时间, 这种反应越多, 所需的时间越长, 所以使研磨后当即测定的发光峰值推后。另一类是在室温下反应较快而在低温下受抑制较大的反应, 在低温下几乎完全停止反应, 但一进入室后便迅速反应, 使反应物质的浓度逐渐降低。冰箱中放置后的发光可能主要是这类反应的缘故。无论发光的原因是什么, 由表2、表3的数据可以看出, 发

光值的高低基本是和储藏年限成反比的。已有的研究表明, 种子的活力随储藏年限的延长而降低, 这说明马铃薯种子萌发96小时左右时, 其粉碎后的水提液的发光强度和种子的活力成正比。

2.2.2 萌发最初几天的种子提取液发光强度的变化趋势

表4中列出了萌发时间在3天以内时提取液的发光值变化情况, 可以看出当发芽时间在72小时以内时, 提取液的发光值与储藏年限没有明显的反比关系, 而发芽1天时发光值似乎和储藏年限成正比。但从图中的曲线之间的关系来看, 储藏年限长的种子萌发在96小时以内时, 其提取液的发光值基本是在1~2万之间, 而储藏年限短、活力高的种子, 随着萌发时间的延长, 其提取液的发光强度有增加的趋势。这说明活力高的种子在萌发过程中合成或转化成发光物质的能力强。

比较图1中的曲线还可以看出, 随着萌发进程的推进, 储藏年限短的种子的提取液, 不但发光强度增高, 而且发光强度变化曲线的峰值出现的时间也在逐步推后, 储藏2年的种子, 萌发25小时左右时, 峰值出现在1.5

表4 萌发72小时以内时的发光值比较

发芽时数	储藏年限	测时(小时)				
		1	1.5	3.5	5.5	7.5
25	2	10692	12976	10799	4408	241
	7	13505	15076	11085	7352	280
	14	16232	20312	14816	4232	3287
48	2	9317	13209	31425	3547	812
	7	6473	6705	1313	594	304
	14	11800	14892	8452	2776	1096
72	2	39244	38761	51895	51863	21323
	7	8171	9194	7620	1934	2073
	14	12356	14331	7312	2763	989

注: ① 时间同表2; ② 发芽时数相同时, 其它各种条件也基本相同; 发芽时数不同时, 测量条件有一定差异

小时左右;萌发48小时时,峰值出现在3.5小时左右;萌发72小时左右时,峰值出现在3.5~5.5小时之间;而萌发96小时时,峰值出现在6小时左右。储藏7年的种子峰值增高是在萌发72小时以后才出现。而储藏14年的种子则无此变化。造成这种差异的原因可能和种子劣变及劣变后萌动速度的差异有关。

据蒙美莲等研究发现,随着储藏年限的增加,种子中酶的损失增加,脂肪酸价提高,浸种液电导率增大,这说明种子的渗出增大,游离脂肪酸含量增大,代谢活性下降。发芽25小时左右时,种子内部代谢还比较弱,提取液的成分主要受渗出和酸败的控制,所以提取液的发光随着储藏年限的增加而增大。储藏年限短的种子,酶等各种生命物质被破坏的少,随着萌发时间的延长,它们的活性逐渐增加,使储藏物质转化成幼芽成分的量越来越多,并且这个过程中还形成了一些高能物质和小分子物质,使得粉碎后提取液中发光物质的浓度也增加,发光强度增大。而随着储藏年限的延长,种子中酶等生命物质的活性逐渐丧失,萌发过程中种子内的物质转化的量减少,当种子中的生命物质损失到一定程度时,种子不能发芽,随着萌发时间的增加,提取液中的成分变化不大,所以发光强度的变化也不大。当种子内的全部酶的活性都达到最大时,或者说当所有能萌发的种子都开始萌发后,提取液的成分则主要受代谢产物的控制,此时的发光强度便与种

子的活力成正比了。因此说,提取液的发光强度可能与其中的生物活性物质或代谢产物的浓度有关,而发光强度随萌发时间的增加而变化,在一定程度上反映了种子萌动的速度及幼芽生命活动强度的变化情况。

3 小 结

a. 风干的马铃薯种子及其在浸种过程中的发光因品种的不同而有一定的差异,种质特性好的种子,其发光值也高。

b. 发芽96小时左右时,粉碎后的提取液的发光值的高低与种子的储藏年限成反比。活力高的种子在发芽的过程中可以把更多的储藏物质转化成提取液的发光物质。

c. 活力高的种子,在萌发的最初4天内,随着萌发时间的延长,其粉碎后提取液的发光强度增大,峰值推后;萌发后提取液的发光强度与幼芽的代谢活动有关。

参 考 文 献

- 1 蒙美莲等. 马铃薯实生种子活力的研究. 马铃薯杂志, 1988, 4: 208 ~ 215
- 2 卢弘斌等. 三种马铃薯 TPS 种子活力的测定. 马铃薯杂志, 1993, 2: 99 ~ 103
- 3 郭华春等. 马铃薯实生苗生长缓慢原因的探讨. 马铃薯杂志, 1989, 4
- 4 天津轻工业学院等. 食品生物化学. 轻工业出版社, 1989

A STUDY ON THE ULTRA-WEAK CHEMILUMINESCENCE OF POTATO TRUE SEED

Chen Youjun and Meng Meilian

(Inner Mongolia Institute of Agriculture and Animal Husbandry, Huhhot, 010018)

ABSTRACT

The result shows: the ultra-weak luminescence of different breed potato true seeds is different, either air-dried or soaked seed, the higher the seed quality, the higher intensity of luminescence it gives; during the soaking process, the highest intensity of luminescence is given in the 2 minutes after the seed have been dipped in water, then the luminescence intensity decrease gradually during the beginning 12 soaking hours.

When the seed is germinated for about 96 hours, the ultra-weak chemiluminescence intensity of the water extract from the smashed seed is inversely proportional to the number of years that the seeds have been stored. In the beginning 96 germinating hours, the chemiluminescence intensity of the water extract from the seeds stored for 2 years increases gradually. But that from the seeds stored for 14 years changes little; and that from the seeds stored for 7 years increases from after 72 germinating hours.

(上接 42 页)

要求较高的氮素条件。

从以上分析可以看出,在一株一茎的有效受光体制条件下,随着氮素供给量的增加,茎、叶、分枝的生长发育增强,干物质生产能力和氮素吸收能力一直持续到收获期;另一方面,在高氮条件下,在块茎膨大初期,光合产物和氮素向茎叶的分配比例增加,块茎膨大能力推移,但是之所以中肥区与高肥区有几乎相同的产量,是由于在高肥区的块茎膨大能力能持续到收获期之故。另外氮肥越多叶面积越大,但中肥区的干物质增加能力最大。

4 结论

a. 干物质增加能力和块茎膨大能力在成熟中期之前,以中肥区为最高,而在成熟后期中低肥区开始下降,高肥区仍能保持较高的

能力。因此,产量几乎与中肥区相等,干物质生产量略高于中肥区。

b. 施肥越多,氮素吸收量和块茎氮素积累量越多。块茎含氮率也随施肥量的增加而增高,并且不论哪个施肥区,在块茎膨大期间几乎不变,节位间的差别也很小,说明增强氮肥也增加了块茎对氮素的要求。

c. 施肥越多出叶速度越快,主茎叶数、分枝节数越多。

d. 块茎数是在生育前期决定的,施肥越多块茎数越多,块茎平均重量在块茎数决定之后迅速增加,高肥区比中肥区略有推移。

e. 在收获期位于中间位置的第 3 ~ 4 节位上的块茎比其它节位多,平均重量也大,并且施肥越多,在收获期不同节位间块茎平均重量的差异越大,块茎重量的变化幅度也越大。