

香椿种子特定贮藏条件下活力变化的研究

张海波, 杨桂娟, 高卫东, 祝 燕, 黄 放, 裴昊斐, 李庆梅*

(国家林业和草原局林木培育重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要: [目的]通过对不同贮藏条件下香椿种子发芽指标、抗氧化酶活性等测定分析,探索种子含水量和贮藏温度对香椿种子生理生化特性的影响,为香椿种子的贮藏方法提供技术支持。[方法]利用100%湿度环境获得9.1%、12.2%、14.0%、15.8%和17.8%五个含水量的香椿种子,在10、15和20℃下分别贮藏90 d,每30 d测定种子发芽率和抗氧化酶活性等指标。[结果]在相同贮藏条件下,随贮藏时间延长,种子发芽率、活力指数、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性逐渐下降,超氧化物歧化酶(SOD)活性先升后降,浸出液电导率和丙二醛(MDA)逐渐上升。经90 d贮藏,随种子含水量或贮藏温度的升高,香椿种子发芽率和活力指数呈下降趋势,浸出液电导率和MDA含量显著上升,种子中SOD、POD和CAT活性均随贮藏时间的延长而显著下降。[结论]种子浸出液电导率和MDA含量与香椿种子发芽率呈显著负相关,抗氧化系统酶活性与发芽率呈显著正相关,膜质过氧化作用是引起香椿种子老化劣变的重要原因之一。本研究得出的香椿种子安全贮藏条件为:当温度不超过15℃时,含水量应控制在12.2%以下,当温度在15~20℃时,含水量应低于9.1%。

关键词: 香椿; 温度; 含水量; 种子贮藏; 生理变化

中图分类号: S722.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2019)02-0152-08

种子活力对农林业生产和种质资源保存具有重要意义。种子老化是制约种子质量的重要因素,也是种子贮藏中普遍存在的一种现象^[1]。种子含水量和贮藏温度是影响贮藏期间种子活力的关键因素。对于大部分种子来说,降低种子含水量可延缓种子老化速度,进而保持种子活力^[2]。在一定的含水量条件下,降低种子的贮藏温度可以延缓种子的衰老,保持较高的发芽率。

香椿(*Toona sinensis* (A. Juss) Rem)为楝科香椿属多年生落叶乔木,是我国特有的速生用材树种,其木材红褐色,具香味,纹理美观,素有“中国桃花心木”之称^[3-4]。香椿还是药食两用植物,其嫩叶含有丰富的蛋白质、多种人体必需的微量元素和多种药用活性^[5]。目前,生产上香椿育苗多采用种子进行繁殖,每年采种时间约为11月中上旬,于次年3月播种育苗,在林业生产上通常要对香椿种子进行一个冬季的贮藏。在我国香椿种子主产区,大多没有低温种子库,种子绝大多数是在简易库房或闲置房

间贮藏,且冬季空气湿度大,种子易吸收空气中的水分使得含水量高于《林木种子贮藏》^[6]和《林木种子质量分级》^[7]所规定的10%的安全含水量。在贮藏期间,温度经常会达到10℃以上,甚至20℃。在相对高温高湿条件下,种子极易发生劣变,造成种子质量下降。本试验通过对不同贮藏条件下香椿种子发芽指标、抗氧化酶活性等生理生化指标的测定分析,旨在探索贮藏条件对香椿种子生理生化特性的影响,为香椿种子的贮藏提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

测试所用种子采集于河南省栾川县。根据GB 2772-1999《林木种子检验规程》^[8],测得初始发芽率为76.3%,初始含水量为9.1%。

为获得不同含水量的种子,将香椿种子置于100%湿度环境下,每日称质量,观测含水量的变化。最终得到5种不同含水量的种子,分别为9.1%、

收稿日期: 2018-01-20 修回日期: 2019-01-16

基金项目: 国家重点研发计划“红锥、椿木等高效培育技术研究”子课题“香椿高效培育技术研究”(编号2016YFD0600606)

* 通讯作者: 李庆梅, 从事林木种苗研究工作. liqm99@163.com。

12.2%、14.0%、15.8%和17.8%。将温度设置为10、15、和20℃ 3个水平对不同含水量种子进行贮藏,以5℃、含水量为9.1%的香椿种子作为对照。将各处理的种子分别置入双层聚乙烯自封袋密封保存在对应温度下的培养箱中,为期90 d。每30 d取样1次测定发芽率及各项生理生化指标。

1.2 指标测定

1.2.1 发芽率和发芽指数测定 随机选取贮藏处理的种子,用始温45℃清水浸种24 h后,置于蛭石基质上进行发芽试验。发芽条件是25℃,每天光照8 h,设3个重复,每个重复100粒种子。每天记录发芽情况,在试验结束后测定发芽率,计算活力指数。

$$\text{活力指数 } VI = S \sum \frac{G_t}{D_t}$$

式中: S 为幼苗平均干质量, G_t 为在 t 日的发芽数, D_t 为相应的发芽日数。

1.2.2 电导率 准确称取各处理种子1.000 g置于小烧杯内,加入50 mL蒸馏水,充分震荡后于25℃条件下静置24 h,摇匀后用DDS-307型电导仪测定浸出液的电导率值。

1.2.3 生理生化指标 称取待测种子0.4 g,加入5 mL 50 mmol·L⁻¹ pH 7.8的磷酸盐缓冲液(含1%的聚乙烯吡咯烷酮)冰上研磨,用高速冷冻离心机在4℃下以8 000 r·min⁻¹离心20 min,上清液即为酶

提取液,定容至6 mL冷藏保存。取适量酶提取液按比例稀释后用于各抗氧化酶活性和丙二醛(MDA)含量的测定。过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的测定方法参照刘子凡主编《种子学实验指南》^[9];MDA的测定方法参照高俊凤主编的《植物生理学实验指导》^[10]。

1.3 数据分析

采用Excel 2013和SPSS 23.0统计软件对试验数据进行处理及相关分析。

2 结果与分析

2.1 不同贮藏条件对香椿种子发芽率和活力指数的影响

由表1、2中可以看出:相同温度条件下,随含水量升高,香椿种子发芽率和活力指数整体上呈下降趋势。初始状态下,当种子含水量达到17.8%时,发芽率已开始下降,下降幅度最大达到了29.6%,对应的活力指数下降了64.7%。随着贮藏时间的延长,含水量为9.1%、12.2%的香椿种子其发芽率在10℃和15℃贮藏条件下大多变化不明显,贮藏前后无显著差异,活力指数小幅下降,但在20℃下,12.2%含水量的种子贮藏60 d后发芽率显著下降,该条件已不适合种子长期贮藏。15.8%、17.8%含水量的种子无论在低温或高温条件下,发芽率和活力指数随贮藏时间延长均显著下降。在20℃下,含

表1 不同贮藏条件对香椿种子发芽率的影响

Table 1 Effect of different storage condition on germination percentage of *Toona sinensis* seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子发芽率 Germination percentage under different storage days/% | | | |
|-------------------------|------------------------|---|----------------|----------------|----------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 74.3 ± 3.51 a | 72.0 ± 5.29 ab | 80.0 ± 7.55 a | 77.7 ± 2.52 a |
| | 12.2 | 74.3 ± 3.51 a | 74.7 ± 6.81 a | 74.7 ± 5.13 ab | 76.0 ± 4.58 a |
| | 17.8 | 68.7 ± 2.08 ab | 60.3 ± 4.04 cd | 68.7 ± 6.66 bc | 67.0 ± 3.61 b |
| 10 | 9.1 | 64.0 ± 5.29 b | 56.0 ± 1.73 d | 55.0 ± 5.29 d | 51.0 ± 6.00 c |
| | 12.2 | 55.3 ± 4.04 c | 46.3 ± 4.51 e | 29.7 ± 3.06 fg | 29.0 ± 4.36 d |
| | 17.8 | 52.3 ± 3.79 c | 36.7 ± 4.73 f | 26.0 ± 3.46 g | 11.7 ± 2.89 e |
| 15 | 9.1 | 74.3 ± 3.51 a | 77.3 ± 2.52 a | 67.7 ± 4.51 bc | 71.7 ± 4.51 ab |
| | 12.2 | 68.7 ± 2.08 ab | 72.7 ± 5.51 ab | 68.7 ± 7.09 bc | 67.7 ± 3.51 b |
| | 17.8 | 64.0 ± 5.29 b | 62.3 ± 3.51 cd | 62.0 ± 3.46 cd | 47.3 ± 4.73 c |
| 20 | 9.1 | 55.3 ± 4.04 c | 38.0 ± 5.29 f | 12.3 ± 3.51 h | 8.7 ± 1.53 ef |
| | 12.2 | 52.3 ± 3.79 c | 41.0 ± 6.08 ef | 9.3 ± 1.15 h | 4.3 ± 1.15 fg |
| | 17.8 | 74.3 ± 3.51 a | 72.0 ± 4.36 ab | 68.3 ± 3.79 bc | 68.0 ± 4.58 b |
| 20 | 9.1 | 68.7 ± 2.08 ab | 60.3 ± 2.31 cd | 37.0 ± 5.00 ef | 27.7 ± 2.52 d |
| | 12.2 | 64.0 ± 5.29 b | 64.7 ± 5.86 bc | 43.7 ± 6.43 e | 33.3 ± 1.53 d |
| | 17.8 | 55.3 ± 4.04 c | 18.3 ± 3.79 g | 3.0 ± 0.00 i | 0.00 ± 0.00 g |
| | 17.8 | 52.3 ± 3.79 c | 11.3 ± 3.51 g | 1.3 ± 0.58 i | 0.00 ± 0.00 g |

注:同列不同字母表示同一贮藏时期不同贮藏处理 $P < 0.05$ 的显著差异,下同。

Note: Data followed by different letters in a column indicate significant differences in $P < 0.05$ for different storage treatments during the same storage period. The same blow.

水量 15.8% 和 17.8% 的种子贮藏 90 d, 已失去发芽能力, 活力指数降为零。这一结果表明: 温度和含水量是种子贮藏过程中的关键因素, 严格控制种子贮藏条件将有利于保持香椿种子的发芽率。表 3 的方

差分析结果显示: 各贮藏温度和种子含水量之间对香椿种子发芽率和活力指数均有极显著影响, 种子含水量和贮藏温度的交互效应也达到极显著水平, 其交互作用加剧了种子活力的下降。

表 2 不同贮藏条件对香椿种子活力指数的影响

Table 2 Effect of different storage condition on the vigor index of *Toona sinensis* seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的活力指数 Vigor index under different storage days | | | |
|-------------------------|------------------------|--|----------------|----------------|---------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 11.90 ± 0.50 a | 13.03 ± 0.74 a | 11.01 ± 0.35 a | 9.88 ± 1.04 a |
| | 12.2 | 11.90 ± 0.50 a | 11.97 ± 0.70 a | 9.66 ± 0.98 b | 8.87 ± 0.82 b |
| | 17.8 | 8.15 ± 1.14 b | 8.84 ± 1.20 b | 8.34 ± 0.80 c | 5.93 ± 0.45 c |
| 10 | 14.0 | 6.34 ± 1.17 c | 6.06 ± 0.67 de | 5.28 ± 0.54 ef | 2.48 ± 0.79 d |
| | 15.8 | 5.10 ± 0.63 c | 3.64 ± 0.07 fg | 2.52 ± 0.52 g | 0.42 ± 0.15 e |
| | 17.8 | 4.20 ± 0.12 d | 2.74 ± 0.41 g | 1.56 ± 0.02 g | 0.12 ± 0.08 e |
| | 9.1 | 11.90 ± 0.50 a | 9.50 ± 0.22 b | 7.82 ± 0.52 c | 8.78 ± 1.06 b |
| 15 | 12.2 | 8.15 ± 1.14 b | 8.06 ± 1.44 bc | 7.86 ± 1.02 c | 5.17 ± 0.48 c |
| | 14.0 | 6.34 ± 1.17 c | 6.09 ± 1.42 de | 5.80 ± 0.89 de | 2.25 ± 0.40 d |
| | 15.8 | 5.10 ± 0.63 c | 2.13 ± 0.25 g | 0.61 ± 0.12 h | 0.02 ± 0.01 e |
| | 17.8 | 4.20 ± 0.12 d | 2.77 ± 0.04 g | 0.45 ± 0.04 h | 0.01 ± 0.01 e |
| 20 | 9.1 | 11.90 ± 0.50 a | 8.09 ± 1.70 bc | 6.56 ± 0.36 d | 5.03 ± 0.34 c |
| | 12.2 | 8.15 ± 1.14 b | 7.20 ± 0.69 cd | 4.35 ± 0.19 f | 0.79 ± 0.17 e |
| | 14.0 | 6.34 ± 1.17 c | 5.02 ± 1.54 ef | 4.66 ± 0.84 f | 0.88 ± 0.02 e |
| | 15.8 | 5.10 ± 0.63 c | 0.30 ± 0.04 h | 0.03 ± 0.01 h | 0.00 ± 0.00 e |
| | 17.8 | 4.20 ± 0.12 d | 0.11 ± 0.07 h | 0.01 ± 0.00 h | 0.00 ± 0.00 e |

表 3 温度和含水量对贮藏 90 d 后香椿种子发芽率和活力指数影响的方差分析

Table 3 Analysis of variance of the influence of temperature and water content on the seed germination rate and vigour index of *Toona sinensis* after storage after 90 days

| 影响因素 Influencing factor | 萌发指标 Germination index | |
|----------------------------|-------------------------------|----------------------|
| | 发芽率 germination percentage | 活力指数 vigour index |
| 温度 Temperature | 140.447 ** | 102.472 ** |
| 含水量 Moisture content | 573.734 ** | 419.040 ** |
| 交互作用 Interaction | 18.447 ** | 21.519 ** |

注: ** 表示 $p < 0.01$ 的极显著差异。下同。

Note: ** indicates significance at $P < 0.01$. The same blow.

2.2 不同贮藏条件对香椿种子抗氧化酶活性的影响

由表 4 可以看出: 随贮藏时间增加, 5℃/9.1%、10℃/9.1%、15℃/9.1%、15℃/14.0% 和 20℃/9.1% 的香椿种子 SOD 活性整体上表现为下降趋势, 但在 90 d 时有所回升, 其他大部分条件下的种子 SOD 活性则表现为先升高, 在贮藏 30 d 时达到最高点, 之后再下降的变化趋势。

表 5、6 表明: CAT 活性的变化趋势与 POD 相似, 即在低温和低含水量情况下, 保持较高的酶活

性, 随含水量或温度的升高, 这 2 种抗氧化酶的活性在整体上都表现为下降趋势。随贮藏时间增加, 相同贮藏条件下的香椿种子 CAT 和 POD 活性整体上有所下降, 贮藏 90 d 后, 不同贮藏处理下的香椿种子 SOD 和 CAT 活性与 CK 均存在显著差异。种子 SOD 活性随其含水量的升高而显著下降, 随温度升高其下降幅度也随之增大。这一趋势与种子发芽率和活力指数的变化相一致, 这意味着 SOD 活性的强弱在一定程度上反映了种子活力的高低。与贮藏前相比, 各处理的香椿种子经 90 d 贮藏后, SOD、CAT 和 POD 活性均显著下降。

表 7 的方差分析结果显示: 各贮藏温度和种子含水量之间对香椿种子 SOD、CAT 和 POD 活性均有极显著影响, 种子含水量和贮藏温度的交互效应也达到极显著水平, 其交互作用加快了抗氧化活性的下降速率。进一步相关性分析显示: 贮藏 90 d 后, 香椿种子 SOD、CAT 和 POD 活性的变化与发芽率之间在 $\alpha = 0.01$ 水平(双侧)上均呈显著正相关, 相关系数分别为 0.869、0.877 和 0.903。

2.3 不同贮藏条件对香椿种子电导率和丙二醛含量的影响

由表 8、9 可知: 在相同的贮藏条件下, 随贮藏时

表4 不同贮藏条件对香椿种子 SOD 活性的影响

Table 4 Effect of different storage condition on SOD activity of *Toona sinensis* seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的 SOD 活性 SOD activity under differnt storage days / (U · g ⁻¹ · min ⁻¹) | | | |
|-------------------------|------------------------|--|------------------|------------------|-----------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 283.98 ± 4.10 a | 277.80 ± 4.13 bc | 226.52 ± 3.12 a | 261.59 ± 3.80 a |
| | 9.1 | 283.98 ± 4.10 a | 281.65 ± 6.74 ab | 230.75 ± 3.20 a | 245.06 ± 3.51 b |
| 10 | 12.2 | 250.70 ± 2.06 c | 284.86 ± 5.19 ab | 214.95 ± 1.53 b | 194.17 ± 6.57 d |
| | 14.0 | 259.92 ± 6.27 b | 268.16 ± 5.83 cd | 207.76 ± 2.77 c | 159.32 ± 3.90 g |
| | 15.8 | 190.67 ± 2.81 d | 291.28 ± 7.10 a | 184.77 ± 2.59 e | 155.43 ± 7.57 g |
| | 17.8 | 159.87 ± 2.94 e | 257.46 ± 8.64 d | 173.06 ± 1.53 fg | 147.49 ± 2.85 h |
| 15 | 9.1 | 283.98 ± 4.10 a | 263.46 ± 6.43 d | 213.40 ± 2.55 bc | 228.20 ± 2.02 c |
| | 12.2 | 250.70 ± 2.06 c | 278.44 ± 7.16 bc | 193.79 ± 1.69 d | 199.68 ± 2.50 d |
| | 14.0 | 259.92 ± 6.27 b | 238.42 ± 6.30 e | 178.56 ± 4.42 ef | 181.36 ± 4.60 e |
| | 15.8 | 190.67 ± 2.81 d | 229.21 ± 4.85 e | 183.22 ± 7.07 e | 169.69 ± 1.56 f |
| 20 | 17.8 | 159.87 ± 2.94 e | 213.80 ± 6.70 f | 169.96 ± 5.01 g | 122.53 ± 3.51 i |
| | 9.1 | 283.98 ± 4.10 a | 236.28 ± 8.40 e | 183.50 ± 4.72 e | 194.00 ± 2.92 d |
| | 12.2 | 250.70 ± 2.06 c | 205.67 ± 8.03 f | 174.89 ± 3.65 fg | 145.06 ± 6.35 h |
| | 14.0 | 259.92 ± 6.27 b | 206.31 ± 7.74 f | 159.80 ± 7.01 h | 115.72 ± 2.12 i |
| | 15.8 | 190.67 ± 2.81 d | 172.71 ± 4.49 g | 147.53 ± 1.49 i | 97.41 ± 4.87 j |
| | 17.8 | 159.87 ± 2.94 e | 176.57 ± 8.99 g | 128.91 ± 3.23 j | 62.24 ± 2.71 k |

表5 不同贮藏条件对香椿种子 CAT 活性的影响

Table 5 Effect of different storage condition on CAT activity of *Toona sinensis* Seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的 CAT 活性 CAT activity under different storage days / (U · g ⁻¹ · L ⁻¹) | | | |
|-------------------------|------------------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 70.15 ± 3.54 a | 70.87 ± 1.51 ab | 75.75 ± 2.27 a | 76.25 ± 3.08 a |
| | 9.1 | 70.15 ± 3.54 a | 74.80 ± 1.64 a | 64.30 ± 1.76 b | 67.35 ± 4.76 b |
| 10 | 12.2 | 63.85 ± 2.18 b | 66.13 ± 4.45 bc | 54.95 ± 3.18 d | 54.90 ± 2.08 cd |
| | 14.0 | 61.30 ± 2.00 b | 62.67 ± 3.76 cd | 61.05 ± 1.73 bc | 55.85 ± 3.27 cd |
| | 15.8 | 46.55 ± 2.77 d | 57.07 ± 4.90 d | 42.45 ± 4.79 f | 38.20 ± 3.55 gh |
| | 17.8 | 52.90 ± 2.03 c | 41.40 ± 1.04 ef | 31.25 ± 5.27 hi | 41.80 ± 0.83 fg |
| 15 | 9.1 | 70.15 ± 3.54 a | 66.80 ± 1.74 bc | 61.80 ± 3.04 bc | 53.05 ± 1.96 d |
| | 12.2 | 63.85 ± 2.18 b | 61.20 ± 3.17 cd | 57.95 ± 2.28 cd | 44.10 ± 2.51 ef |
| | 14.0 | 61.30 ± 2.00 b | 58.47 ± 2.73 d | 43.95 ± 1.73 ef | 47.60 ± 1.31 e |
| | 15.8 | 46.55 ± 2.77 d | 44.73 ± 6.49 e | 49.05 ± 1.43 e | 33.16 ± 1.00 i |
| 20 | 17.8 | 52.90 ± 2.03 c | 37.20 ± 2.50 f | 35.25 ± 5.27 gh | 28.10 ± 3.61 jk |
| | 9.1 | 70.15 ± 3.54 a | 60.33 ± 5.66 cd | 61.80 ± 1.97 bc | 59.25 ± 2.08 c |
| | 12.2 | 63.85 ± 2.18 b | 61.47 ± 1.10 cd | 56.05 ± 0.46 cd | 34.50 ± 3.31 hi |
| | 14.0 | 61.30 ± 2.00 b | 58.27 ± 4.43 d | 42.70 ± 2.04 f | 34.55 ± 1.79 hi |
| | 15.8 | 46.55 ± 2.77 d | 44.93 ± 4.39 e | 38.00 ± 6.15 fg | 26.05 ± 1.14 k |
| | 17.8 | 52.90 ± 2.03 c | 41.73 ± 0.42 ef | 28.05 ± 3.25 i | 30.25 ± 2.86 ij |

表6 不同贮藏条件对香椿种子 POD 活性的影响

Table 6 Effect of different storage condition on POD Activity of *Toona sinensis* seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的 POD 活性 POD activity under different storage days / (U · g ⁻¹ · min ⁻¹) | | | |
|-------------------------|------------------------|---|-----------------|------------------|-----------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 144.40 ± 4.65 a | 139.33 ± 2.89 a | 125.55 ± 7.35 a | 130.60 ± 2.64 a |
| | 9.1 | 144.40 ± 4.65 a | 138.87 ± 5.28 a | 110.80 ± 3.80 bc | 123.60 ± 3.77 a |
| 10 | 12.2 | 135.25 ± 2.82 b | 119.07 ± 3.37 b | 115.95 ± 3.17 b | 83.05 ± 2.15 c |
| | 14.0 | 121.20 ± 2.74 b | 121.00 ± 0.20 b | 94.70 ± 6.69 e | 100.65 ± 5.25 b |
| | 15.8 | 95.50 ± 2.00 d | 82.73 ± 5.83 d | 60.10 ± 1.76 h | 54.10 ± 4.66 ef |
| | 17.8 | 110.70 ± 4.33 c | 82.60 ± 3.14 d | 45.85 ± 0.38 i | 60.85 ± 4.15 de |
| 15 | 9.1 | 144.40 ± 4.65 a | 101.80 ± 1.11 c | 91.55 ± 2.78 e | 125.50 ± 4.63 a |
| | 12.2 | 135.25 ± 2.82 b | 101.53 ± 1.27 c | 83.20 ± 4.51 f | 102.65 ± 4.91 b |
| | 14.0 | 121.20 ± 2.74 b | 84.47 ± 5.49 d | 71.75 ± 3.44 g | 67.20 ± 8.80 d |
| | 15.8 | 95.50 ± 2.00 d | 83.20 ± 3.14 d | 44.95 ± 2.42 i | 48.60 ± 6.09 fg |
| | 17.8 | 110.70 ± 4.33 c | 64.73 ± 6.29 ef | 44.45 ± 4.08 i | 48.95 ± 4.85 fg |

续表6

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的 POD 活性 POD activity under different storage days/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹) | | | |
|-------------------------|------------------------|---|-----------------|------------------|-----------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 20 | 9.1 | 144.40 ± 4.65 a | 101.80 ± 2.16 e | 103.95 ± 1.98 d | 106.00 ± 5.20 b |
| | 12.2 | 135.25 ± 2.82 b | 96.60 ± 7.48 e | 105.80 ± 2.56 cd | 60.70 ± 5.39 de |
| | 14.0 | 121.20 ± 2.74 b | 78.93 ± 4.24 d | 64.65 ± 4.40 h | 40.00 ± 4.86 gh |
| | 15.8 | 95.50 ± 2.00 d | 65.93 ± 2.19 e | 47.30 ± 1.69 i | 36.45 ± 5.28 h |
| | 17.8 | 110.70 ± 4.33 c | 58.40 ± 1.93 f | 35.75 ± 2.78 j | 33.55 ± 9.05 h |

表7 温度和含水量对贮藏90 d后香椿种子
抗氧化酶活性影响的方差分析

Table 7 Analysis of variance of temperature and moisture content on the antioxidative enzyme activity of *Toona sinensis* seed after storage after 90 days

| 影响因素 Influencing factor | 抗氧化酶活性 Antioxidative enzyme activity | | |
|----------------------------|--------------------------------------|------------|------------|
| | SOD | CAT | POD |
| 温度 Temperature | 925.991 ** | 124.641 ** | 116.301 ** |
| 含水量 Moisture content | 903.050 ** | 161.539 ** | 257.600 ** |
| 交互作用 Interaction | 24.750 ** | 8.168 ** | 13.814 ** |

间的增加,丙二醛(MDA)含量与浸出液电导率的变化相一致,整体上表现为升高趋势。在相同温度条件下,浸出液电导率和MDA含量均随种子含水量的增加而增加。经90 d贮藏后,与CK处理相比,只在10℃/9.1%、15℃/9.1% 2个贮藏条件下的香椿种子浸出液电导率和MDA含量无显著差异。与贮藏前相比,经过90 d的贮藏,种子MDA含量均显著增加,20℃/17.8%处理条件下的浸出液电导率和MDA含量增长幅度均最大,分别达到了24.7%和

53.7%。

经90 d的贮藏,除10℃/9.1%和15℃/9.1% 2个处理外,其他贮藏条件下的浸出液电导率与CK处理相比均差异显著,其中,20℃/17.8%处理的种子浸出液电导率达到了CK处理的1.98倍。由表9可以看出:除10℃/9.1%和15℃/9.1% 2个处理外,其他各不同贮藏条件下的MDA含量与CK处理相比均显著增大。表10的方差分析结果表明:各贮藏温度和种子含水量之间对香椿种子电导率和MDA含量均有极显著影响,种子含水量和贮藏温度的交互效应也达到极显著水平,其交互作用促进了贮藏过程中电导率和MDA含量的增加。相关性分析显示,香椿种子在贮藏90 d后浸出液电导率、MDA含量变化与发芽率之间在 $\alpha = 0.01$ 水平(双侧)上均为显著负相关,相关系数分别为-0.895和-0.924,MDA含量与浸出液电导率之间在 $\alpha = 0.01$ 水平(双侧)上呈显著正相关,相关系数为0.918。

表8 不同贮藏条件对香椿种子电导率的影响

Table 8 Effect of different storage condition on relative electrical conductivity of *Toona sinensis* seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的电导率/($\mu\text{s} \cdot (\text{cm} \cdot \text{g})^{-1}$) | | | |
|-------------------------|------------------------|--|------------------|-----------------|------------------|
| 温度 Temperature/℃ | 含水量 Moisture content/% | Relative electrical conductivity under different storage days | | | |
| | | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 106.77 ± 1.40 d | 118.00 ± 5.21 h | 114.10 ± 1.73 h | 107.10 ± 2.19 i |
| | 9.1 | 106.77 ± 1.40 d | 115.47 ± 2.39 h | 105.03 ± 3.23 i | 109.70 ± 1.59 i |
| | 12.2 | 122.50 ± 1.42 c | 131.87 ± 0.74 f | 133.53 ± 1.20 g | 139.67 ± 4.18 g |
| | 14.0 | 139.63 ± 2.06 b | 152.67 ± 0.45 e | 157.33 ± 1.31 e | 171.00 ± 1.66 f |
| | 15.8 | 141.63 ± 1.59 b | 160.90 ± 1.81 d | 170.23 ± 1.55 d | 173.00 ± 1.61 f |
| 10 | 17.8 | 170.30 ± 2.10 a | 200.47 ± 1.86 a | 194.40 ± 1.80 b | 192.40 ± 0.50 c |
| | 9.1 | 106.77 ± 1.40 d | 128.30 ± 0.52 g | 132.93 ± 1.72 g | 108.27 ± 1.44 i |
| | 12.2 | 122.50 ± 1.42 c | 131.97 ± 0.81 f | 133.67 ± 1.25 g | 123.33 ± 1.66 h |
| | 14.0 | 139.63 ± 2.06 b | 131.77 ± 1.10 f | 145.67 ± 0.87 f | 141.33 ± 1.78 g |
| | 15.8 | 141.63 ± 1.59 b | 189.90 ± 1.35 c | 186.70 ± 1.70 c | 188.37 ± 1.32 d |
| 15 | 17.8 | 170.30 ± 2.10 a | 196.73 ± 2.15 b | 190.07 ± 3.69 c | 196.73 ± 2.15 b |
| | 9.1 | 106.77 ± 1.40 d | 132.47 ± 0.83 f | 131.07 ± 2.42 g | 122.07 ± 1.80 h |
| | 12.2 | 122.50 ± 1.42 c | 130.87 ± 0.35 fg | 147.07 ± 1.36 f | 139.73 ± 3.61 g |
| | 14.0 | 139.63 ± 2.06 b | 157.03 ± 0.38 d | 171.90 ± 0.36 d | 195.80 ± 2.69 bc |
| | 15.8 | 141.63 ± 1.59 b | 185.77 ± 0.99 c | 187.10 ± 1.11 c | 183.10 ± 2.46 e |
| 20 | 17.8 | 170.30 ± 2.10 a | 201.67 ± 2.08 a | 209.33 ± 4.04 a | 212.33 ± 4.16 a |

表9 不同贮藏条件对香椿种子MDA含量的影响

Table 9 Effect of different storage condition on MDA content of *Toona sinensis* seeds

| 贮藏条件 Storage conditions | | 不同贮藏天数种子的MDA含量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) MOA content under different storage days | | | |
|-------------------------|------------------------|---|-----------------|----------------|------------------|
| 温度 Temperature/°C | 含水量 Moisture content/% | 0 | 30 | 60 | 90 |
| 5 | 9.1 | 2.337 ± 0.06 d | 2.572 ± 0.10 i | 2.496 ± 0.17 j | 3.056 ± 0.19 i |
| | 12.2 | 2.337 ± 0.06 d | 2.414 ± 0.18 h | 2.710 ± 0.08 i | 2.996 ± 0.05 i |
| 10 | 9.1 | 2.839 ± 0.13 c | 2.989 ± 0.16 g | 2.966 ± 0.11 h | 4.412 ± 0.13 g |
| | 12.2 | 2.691 ± 0.03 c | 3.072 ± 0.16 gf | 3.342 ± 0.13 g | 4.810 ± 0.13 f |
| | 14.0 | 3.897 ± 0.14 b | 3.502 ± 0.14 de | 4.851 ± 0.06 c | 5.931 ± 0.10 bcd |
| | 15.8 | 4.100 ± 0.07 a | 3.800 ± 0.13 c | 5.128 ± 0.22 b | 6.106 ± 0.17 ab |
| 15 | 9.1 | 2.337 ± 0.06 d | 3.240 ± 0.09 f | 2.952 ± 0.10 h | 3.070 ± 0.07 i |
| | 12.2 | 2.839 ± 0.13 c | 3.233 ± 0.04 f | 3.758 ± 0.15 f | 3.850 ± 0.14 h |
| | 14.0 | 2.691 ± 0.03 c | 3.013 ± 0.04 f | 4.860 ± 0.09 c | 4.766 ± 0.16 f |
| | 15.8 | 3.897 ± 0.14 b | 3.255 ± 0.13 gf | 3.982 ± 0.10 e | 5.753 ± 0.08 cd |
| 20 | 17.8 | 4.100 ± 0.07 a | 4.156 ± 0.16 b | 4.533 ± 0.11 d | 5.696 ± 0.07 d |
| | 9.1 | 2.337 ± 0.06 d | 2.525 ± 0.09 h | 2.323 ± 0.15 j | 3.772 ± 0.12 h |
| | 12.2 | 2.839 ± 0.13 c | 3.618 ± 0.06 cd | 4.382 ± 0.13 d | 4.964 ± 0.08 f |
| | 14.0 | 2.691 ± 0.03 c | 4.268 ± 0.12 b | 4.132 ± 0.14 e | 6.024 ± 0.05 abc |
| | 15.8 | 3.897 ± 0.14 b | 4.902 ± 0.06 a | 4.464 ± 0.18 d | 5.366 ± 0.13 e |
| | 17.8 | 4.100 ± 0.07 a | 5.047 ± 0.02 a | 5.514 ± 0.09 a | 6.301 ± 0.13 a |

表10 温度和含水量对贮藏90天后的香椿种子电导率和MDA含量影响的方差分析

Table 10 Analysis of variance of the influence of temperature and water content on the conductivity and MDA content of *Toona sinensis* seed after storage after 90 days

| 影响因素 Influencing factor | 细胞膜透性 Membrane permeability | |
|-------------------------|-----------------------------|------------|
| | 电导率 Conductivity | MDA |
| 温度 Temperature | 247.248 ** | 127.075 ** |
| 含水量 Moisture content | 1 953.798 ** | 876.990 ** |
| 交互作用 Interaction | 75.641 ** | 9.651 ** |

3 讨论

种子的贮藏过程是其自然的老化过程,在此过程中会受到多种自身和外部环境因素的影响,其中,种子含水量和贮藏温度是影响种子寿命的2个关键因子。目前,在水稻、西南桦和紫花苜蓿方面的研究结果表明,种子的老化程度与其含水量呈正相关,种子含水量越高,经贮藏后的种子活力下降越快^[11-13]。将种子保存在低温、低含水量的条件下,能更好地保持种子的发芽率^[14]。在贮藏过程中,含水量对于种子产生的劣变作用远大于温度^[15-18]。本研究发现,仅在经过含水量控制的过程中,种子发芽率和活力指数就显著下降,表明香椿种子可能不耐贮藏,控制好种子含水量和贮藏温度,可保持香椿种子活力,延长种子寿命。当环境温度为10~15℃时,含水量9.1%、12.2%的香椿种子经过90d的贮藏,发芽率下降不明显,表明低温、低含水量有利于

香椿种子活力的保持;当温度升高至20℃时,12.2%含水量条件下的种子发芽率和活力指数迅速下降,这说明种子贮藏的安全含水量随温度的变化而产生相应改变,种子劣变是温度和水分共同作用的结果。将温度控制在10℃,含水量提升到14.0%时,香椿种子发芽率即出现显著下降,因此,12.2%含水量是香椿种子安全贮藏的临界点。在种子入库前,应将种子进行干燥处理,确保其达到安全含水量。本研究中得出的香椿种子安全贮藏条件为:当温度不超过15℃时,含水量应控制在12.2%以下;当温度为15~20℃时,含水量应低于9.1%。

SOD、CAT和POD作为抗氧化酶,在种子老化过程中起到关键作用,对清除细胞内自由基、延缓种子衰老有重要意义。SOD是机体内天然存在的超氧自由基清除因子,它可以把有害的机体代谢产生的超氧自由基转化为 H_2O_2 ;但 H_2O_2 对机体仍然是有害物质,经体内的CAT和POD的作用,可将 H_2O_2 转化为生命活动可利用的 H_2O 。这样,3种抗氧化酶共同协作组成了一个完整的抗氧化链条。林程等^[11]研究发现,SOD、CAT和POD的活性变化与种子活力变化整体一致,种子活力越低,POD、CAT和SOD活性也相对较低,能反映出种子质量的高低。常海文等^[19]对沙葱种子的研究认为,种子萌发率与SOD、CAT活性呈显著正相关。此外,还有大量研究表明^[20-23],SOD、CAT和POD的含量随种子老化程度的加剧而降低。在本研究中发现,对香椿种子进行90d贮藏,各贮藏条件下的SOD、CAT和POD活

性与贮藏前相比均显著下降,且随种子含水量或温度增加,酶活性下降速率均有所加快。对贮藏 90 d 后的香椿种子的 SOD、CAT 和 POD 活性与发芽率进行相关分析,发现这 3 个抗氧化酶活性与发芽率呈显著正相关,因此,抗氧化酶活性可作为测定香椿种子活力的重要指标。

种子电导率的变化能够反映种子细胞膜结构的完整性,测定种子电导率可以作为鉴定种子活力的快速方法^[17,24]。白亚利等^[25]探究贮藏时间对种子活力的影响时发现,随着种子的老化,电导率值随之增加,即电导率与种子的活力呈负相关。MDA 是植物组织活性氧积累诱发的膜质过氧化最重要的产物之一^[26],可以表明种子的生物膜受到毒害的程度。有多项研究表明^[27-30],随种子老化程度的加深,种子 MDA 含量显著增加。在本研究中,随贮藏时间的增加,种子的 MDA 含量增加,浸出液电导率增大。根据多重比较和方差分析的结果,在低含水量(9.1%)水平下,种子浸出液电导率和 MDA 含量与 CK 相比,差异并不显著,维持在较低水平。随含水量或温度升高,电导率和 MDA 含量均显著增大。另外,相关分析结果显示,浸出液电导率与种子发芽率呈显著负相关,与 MDA 含量呈显著正相关。在逆境条件下,细胞内部产生大量自由基,因而抗氧化酶活性也处在较高水平,以减轻自由基对细胞膜的损伤。随着逆境加剧,打破了细胞内部自由基的产生与活性氧的清除之间的动态平衡,内环境的恶化抑制了抗氧化酶分解自由基,导致 MDA 大量积累,内环境进一步恶化,造成种子活力降低,甚至失去发芽能力。由此可见,膜质过氧化作用是引起香椿种子老化劣变的重要原因之一。

4 结 论

香椿种子浸出液电导率、抗氧化系统酶活性和 MDA 的变化与种子老化程度密切相关。发芽率和活力指数随种子含水量或贮藏温度升高呈下降趋势,而电导率和 MDA 含量则呈增加的趋势,种子中 SOD、POD 和 CAT 活性均随老化程度的加深呈现逐渐降低趋势,香椿种子劣变是温度和含水量交互作用的结果。贮藏 90 d 后,香椿种子发芽率和活力指数与 SOD、CAT、POD 活性呈显著正相关,与浸出液电导率、MDA 含量呈显著负相关,抗氧化酶活性可作为测定香椿种子活力的指标,膜质过氧化作用是引起香椿种子老化劣变的一个重要原因。对于短期

还不能进入使用环节的种子,必须妥善地进行贮藏,以保持较好的种子活力状况。本研究中得出的香椿种子安全贮藏条件为:当温度不超过 15℃ 时,含水量应控制在 12.2% 以下;当温度在 15 ~ 20℃ 时,含水量应低于 9.1%。

参 考 文 献:

- [1] 汤菊香,李广领,彩改玲,等. 花生种子活力与生理生化性状关系的研究[J]. 河南农业大学学报,2005,39(3):300-303.
- [2] 李庆梅,侯龙鱼,段新芳,等. 油松种子超干贮藏生理生化特征的研究[J]. 林业科学研究,2009,22(1):124-128.
- [3] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京:中国林业出版社,1990.
- [4] 金波,东惠茹. 香椿种子及贮藏过程中的生理变化[J]. 上海农业学报,1991,7(4):38-42.
- [5] 李秀信. 香椿资源开发与利用[D]. 扬凌:西北农林科技大学,2005.
- [6] GB 10016—1999 林木种子贮藏[S]. 北京:中国标准出版社,2000.
- [7] GB 7908—1999 林木种子质量分级[S]. 北京:中国标准出版社,2000.
- [8] GB 2772—1999 林木种子检验规程[S]. 北京:中国标准出版社,2000.
- [9] 刘子凡. 种子学实验指南[M]. 北京:化学工业出版社,2011.
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [11] 林程,沈杭琪,关亚静,等. 不同含水量和包装方式杂交水稻种子贮藏后生理生化及 ABA 和 GA₃ 相关基因表达的变化[J]. 植物生理学报,2017,53(6):1077-1086.
- [12] 曾杰,翁启杰,郑海水. 西南桦种子贮藏试验[J]. 林业科学研究,2001,14(4):430-434.
- [13] 李春杰,王彦荣,朱廷恒,等. 紫花苜蓿种子对逆境贮藏条件的反应[J]. 应用生态学报,2002,13(8):957-961.
- [14] Goel A, Sheoran I S. Lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing[J]. Biologia Plantarum,2003,46(3):429-434.
- [15] Harrington J F. Thumb rules of drying seeds[J]. Crops and Soils, 1960,13:16-17
- [16] 王彦荣,余玲,刘友良,沈益新. 数种牧草种子劣变的生活力与膜透性的关系[J]. 草业学报,2002,11(3):85-91.
- [17] 杨哈,刘鸿飞,杨合龙,等. 贮藏温度和种子含水量对扁穗冰草种子质量的影响[J]. 草业科学,2016,33(10):2033-2040.
- [18] 马红媛,梁正伟. 不同贮藏条件和发芽方法对羊草种子萌发的影响[J]. 应用生态学报,2007,18(5):999-1004.
- [19] 常海文,张凤兰,杨忠仁,等. 沙葱种子贮藏陈化过程中的生理生化应答反应[J]. 植物生理学报,2015,51(7):1075-1081.
- [20] 喻方圆,邵岚,沈永宝. 杉木、马尾松种子贮藏过程中生理生化变化研究[J]. 林业科学,2006,42(12):137-142.
- [21] 孙春青,杨伟,戴忠良,等. 人工老化处理对结球甘蓝种子生理生化特性的影响[J]. 西北植物学报,2012,32(8):1615-1620.

- [22] Tang Shande, TeKrony D M, Egli D B. An alternative model to predict corn seed deterioration during storage [J]. *Crop Science*, 2000, 40(2): 463–470.
- [23] Kong L Q, Mao P S, Yu X D, *et al.* Physiological changes in oat seeds aged at different moisture contents [J]. *Seed Science and Technology*, 2014, 42(2): 190–201.
- [24] 廖文燕, 高捍东. 金钱松种子贮藏过程中的生理生化特征研究 [J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2012, 36(2): 52–58.
- [25] 白亚利, 云 岚, 宋百枝. 新麦草种子贮藏时间对种子活力的影响 [J]. *种子*, 2015, 34(8): 33–38.
- [26] 李吟平, 程秋香, 席鹏洲, 等. 含水量对黄精种子贮藏生理的影响 [J]. *种子*, 2016, 35(5): 18–22, 26.
- [27] 李春雷, 马世骏, 彭 滨, 等. 人工老化对玉米种子活力指标、内含物质含量及生理指标的影响 [J]. *吉林农业大学学报*, 2014, 36(5): 505–509, 514.
- [28] Xia F S, Chen L L, Sun Yan, *et al.* Relationships between ultrastructure of embryo cells and biochemical variations during ageing of oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture content [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, 37(4): 89–100.
- [29] 陈玲玲, 程 航, 张阳阳, 等. 不同贮藏年限放汉苜蓿种子活力及生理特性的研究 [J]. *种子*, 2017, 36(3): 23–27 + 32
- [30] 解楠楠, 骆文坚, 姜 琴, 等. 温度与含水量对金钱松种子贮藏的影响 [J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(6): 1100–1106.

Study on the Seed Vigor of *Toona sinensis* under Specific Storage Conditions

ZHANG Hai-bo, YANG Gui-juan, GAO Wei-dong, ZHU Yan, HUANG Fang, PEI Hao-fei, LI Qing-mei

(Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of the National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: [**Objective**] To study the effects of seed moisture content and storage temperature on the physiological and biochemical characteristics of *Toona sinensis* by analyzing the germination index and antioxidant enzyme activity, so as to provide references for the storage method of *T. sinensis* seed. [**Method**] The seeds of *Toona sinensis* with five water contents of 9.1%, 12.2%, 14.0%, 15.8% and 17.8% were obtained under 100% humidity environment and stored for 90 days at 10°C, 15°C and 20°C. The seed germination rate and antioxidant enzyme activity were measured every 30 days. [**Result**] Under the same storage conditions, the seed germination percentage, vigor index, CAT activity and POD activity decreased gradually with the increase of storage time, and the SOD activity increased at first and then decreased, the conductivity and the content of MDA went up gradually. After 90 days of storage, with the increase of water content or temperature, the seed germination percentage and vigor index of *T. sinensis* decreased, the conductivity and MDA content of the extract increased significantly. The activities of SOD, POD and CAT decreased significantly with the deepening of aging. [**Conclusion**] Both conductivity and MDA content indexes are significantly and negatively correlated with germination percentage. Antioxidant enzyme activity is significantly and positively correlated with germination percentage. Membrane lipid peroxidation is one of the important reasons for aging deterioration of *T. sinensis* seed. The safe storage conditions of *T. sinensis* seed in this experiment are as follows: when the temperature does not exceed 15°C, the water content should be controlled below 12.2%; when the temperature is between 15°C and 20°C, the water content should be below 9.1%.

Keywords: *Toona sinensis*; Temperature; moisture content; seed storage; physiological change

(责任编辑:张 研)