

余海兵, 刘正, 吴跃进, 等. 玉米种子人工加速老化方法的选择[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(3): 672-674.

玉米种子人工加速老化方法的选择

余海兵¹, 刘正¹, 吴跃进², 王波¹

(1. 安徽科技学院, 安徽凤阳 233100; 2. 中国科学院离子束生物工程重点实验室, 安徽合肥 230031)

关键词: 玉米; 人工加速老化; 活力特性

中图分类号: S513.09

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2011)03-0672-03

Selection and application of accelerated aging method for maize seeds

YU Hai-bing¹, LIU Zheng¹, WU Yue-jin², WANG Bo¹

(1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China; 2. Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering, Institute of Plasma Physics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China)

Key words: maize; accelerated aging; dynamic characteristic

种子自然成熟后即进入衰老过程, 生活力逐渐丧失, 这被称为种子的老化, 是种子贮藏过程中普遍存在的一种现象。种子老化不仅影响种子萌发与幼苗的生长, 也会影响到后期植株的产量与品质^[1]。延长种子的寿命旨在保存种子资源以及保持种子的纯度和高活力。玉米种子的老化进程快慢, 一方面与品种有关, 另一方面与环境中的温湿度有关。抗衰老的玉米品种对种子资源保护及种子寿命有重要价值。选择抗衰老玉米品种, 通常是将不同品种的玉米种子置于自然条件下进行老化比较, 周期较长。本研究设置不同的温湿度组合, 以发芽情况、丙二醛含量、酯酶同工酶为指标, 确定人工加速老化的最佳条件, 并采用优化法, 选育耐贮藏自交系种质资源, 以期对玉米种质资源的保护和玉米良种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料用的玉米自交系共 25 份(按籽粒特点分: 糯质型 6 份、马齿型 9 份、硬粒型 10 份), 从中挑出不同类型的同

工酶缺失体 P138、双 M₉、A026、5 号、A023、浙糯、矮四糯、糯 FW-2 共 8 个系并组配的 10 个杂交种, 包括正反交 3 组。

1.2 方法

1.2.1 人工加速老化 25 份自交系种子常温下存放 26 个月, 设为对照 A, 温湿度设置 4 个处理, B: 温度 40 ℃, 相对湿度 65%; C: 温度 40 ℃, 相对湿度 80%; D: 温度 40 ℃, 相对湿度 100%; E: 温度 43 ℃, 相对湿度 85%。B、C、E 3 个处理在智能人工气候箱中进行, 将 25 份玉米种子各 100 g 分成若干份放在尼龙纱网袋中, 置于智能人工气候箱中加速老化。D 处理按照以下试验操作进行: 在直径 30 cm 的干燥器底部放入无菌水, 使水面和筛网面相距 2 cm, 将表面用 2% 次氯酸钠消毒过的玉米种子平铺在筛网上, 用凡士林密封干燥器^[2,4], 干燥器预先紫外消毒。各处理从第 3 d 开始, 定期取样。

1.2.2 种子发芽势和发芽率测定 主要参照了国际种子检验规程进行种子发芽试验。先将培养皿高温灭菌后用 75% 的酒精擦拭消毒, 用沙培做发芽试验, 每培养皿称 232 g 沙子, 加 50 ml 蒸馏水, 每皿播 25 粒种子, 重复 5~9 次。置于 3GX2 型智能光照培养箱里, 恒温 25 ℃, 每天观察记载并加水, 在第 4 d 统计发芽势, 第 12 d 统计发芽率, 测量苗高, 计算种子发芽势和种子发芽率^[2,6]。

1.2.3 丙二醛(MDA)含量测定 参照文献[4,7-9]的方法, 称取 0.5 g 玉米叶, 加 5% 三氯乙酸(TCA)5 ml, 研磨后所得匀浆在 3 000 r/min 下离心 8 min。取上清液 2 ml, 加 0.67% 硫代巴比妥酸(TBA)2 ml, 混合后 100 ℃ 水浴煮沸 30 min, 冷

收稿日期: 2010-09-17

基金项目: 安徽省科技厅农业成果转化基金项目(09150306012); 安徽省教育厅重点自然基金项目(KJ2008A079)

作者简介: 余海兵(1975-), 安徽枞阳人, 硕士, 副教授, 研究方向为玉米育种。(E-mail) hsm50721@sohu.com

通讯作者: 刘正, (E-mail) liuzheng50999@21.cn.com

后再离心1次。分别测定上清液在450 nm、532 nm和600 nm处的吸光度值,并按公式计算出MDA浓度 $C(\mu\text{mol/L})$ 。

$$C = 6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}$$

1.2.4 脱氢酶活性测定 参照胡晋^[10] TTC改进法,将老化的玉米种子萌发1 d,剥下胚,每个样品取10个完整胚,加入新鲜0.1% TTC溶液10 ml摇匀,盖上塞子,置35℃温箱(黑暗)中染色3 h,终止反应后用蒸馏水冲洗3次,取出滤干后移入试管中,加入10 ml 95%酒精于35℃温箱中浸提24 h,测定490 nm下的OD值^[11-12]。

2 结果

2.1 不同处理对玉米自交系种子发芽、丙二醛含量和脱氢酶活性的影响

2.1.1 玉米自交系种子发芽情况 25份玉米自交系种子在同一温度(B、C、D)处理下,随着湿度或温度的提高发芽势和发芽率均呈下降趋势;从25个玉米自交系的发芽势和发芽率变化规律来看,处理E效果接近对照A。

2.1.2 不同处理的玉米自交系丙二醛含量的比较 MDA是脂质过氧化的产物,对植物细胞具有明显的毒害作用^[6],其含量可以显示脂质过氧化的程度。从试验结果看出,玉米自交系贮藏26个月后,25份材料MDA差异比较大,含量最高为黄白糯(1.39 $\mu\text{mol/L}$),含量最低为A026(0.33 $\mu\text{mol/L}$);8个缺失体玉米自交系的MDA含量相对较低。

不同处理对MDA含量也有影响,但在温度43℃、相对湿度85%条件下处理3 d(E处理),玉米自交系种子中MDA含量与常温下存放26个月(对照)差异不大。

2.1.3 玉米自交系脱氢酶活性 脱氢酶活性是测定种子活力的重要指标。氧化态的氯化三苯基四氮唑(TTC)接受了活种子呼吸过程中由脱氢酶产生的氢,变成还原态的红色三苯基甲月替(TTCH)。提取后定量测定,TTCH含量愈高,则说明脱氢酶活性愈强,种子活力愈高^[7-9]。试验结果表明,随着温湿度变化,脱氢酶的活性变化与发芽情况一致,即在同一温度情况下,25份玉米自交系的脱氢酶活性均随着温度或湿度的提高呈下降趋势;其中,在温度43℃、相对湿度85%条件下处理3 d(E处理),玉米自交系种子中脱氢酶活性与常温下存放26个月(对照)差异不大。

2.2 人工加速老化优化方法的玉米自交系生理特性与活力指标的相关系数

表1显示,25份玉米自交系种子的脱氢酶的活性与发芽势、发芽率、活力指数均呈正相关,MDA含量与发芽势、发芽率呈负相关。其中,系739、矮四糯的MDA含量与发芽势、发芽率显著相关;多22A的脱氢酶与发芽势显著相关;系739的脱氢酶与发芽率显著相关;其他自交系的MDA含量、脱氢酶与发芽势、发芽率均极显著相关。温度43℃、相对湿度85%条件下处理3 d(E处理)与常温下存放26个月(对照)效果相似,是人工加速老化方法中最优的一种。

表1 人工加速老化优化方法的玉米自交系生理特性与活力指标的相关系数

Table 1 The correlation coefficient of the physiological characteristics and vigor indexes of maize inbred lines by method of accelerated aging

自交系名称	活力指标	丙二醛含量	脱氢酶活性	自交系名称	活力指标	丙二醛含量	脱氢酶活性
郑19	发芽势	-0.974 43**	0.978 31**	AD130	发芽势	-0.990 61**	0.994 34**
	发芽率	-0.987 89**	0.997 02**		发芽率	-0.989 53**	0.976 53**
海B	发芽势	-0.905 60**	0.919 34**	黄白糯	发芽势	-0.989 43**	0.987 78**
	发芽率	-0.971 74**	0.956 46**		发芽率	-0.995 30**	0.985 08**
桂C002	发芽势	-0.984 68**	0.978 32**	糯2214	发芽势	-0.944 14**	0.992 32**
	发芽率	-0.966 71**	0.994 53**		发芽率	-0.968 60**	0.984 01**
A013	发芽势	-0.985 27**	0.957 28**	板么糯	发芽势	-0.940 32**	0.970 33**
	发芽率	-0.900 78**	0.990 22**		发芽率	-0.987 52**	0.977 18**
A016	发芽势	-0.913 65**	0.969 29**	P138	发芽势	-0.961 46**	0.945 44**
	发芽率	-0.942 64**	0.973 72**		发芽率	-0.945 58**	0.998 89**
325	发芽势	-0.967 17**	0.937 36**	双M9	发芽势	-0.945 58**	0.959 43**
	发芽率	-0.982 87**	0.976 60**		发芽率	-0.999 84**	0.989 09**
海A	发芽势	-0.984 59**	0.968 11**	A026	发芽势	-0.992 96**	0.943 59**
	发芽率	-0.929 95**	0.927 96**		发芽率	-0.989 83**	0.978 88**
52106	发芽势	-0.980 52**	0.980 91**	5号	发芽势	-0.940 51**	0.976 76**
	发芽率	-0.986 72**	0.928 31**		发芽率	-0.960 97**	0.981 41**
多22A	发芽势	-0.898 14**	0.859 52*	A023	发芽势	-0.892 60**	0.904 21**
	发芽率	-0.951 20**	0.896 64**		发芽率	-0.996 53**	0.957 47**
系145	发芽势	-0.967 21**	0.918 13**	浙糯	发芽势	-0.978 72**	0.982 14**
	发芽率	-0.984 35**	0.898 46**		发芽率	-0.974 18**	0.973 59**
系739	发芽势	-0.800 19*	0.946 25**	矮四糯	发芽势	-0.855 29*	0.956 55**
	发芽率	-0.878 07*	0.824 01*		发芽率	-0.857 41*	0.955 53**
系138	发芽势	-0.908 45**	0.989 01**	糯FW-2	发芽势	-0.944 23**	0.987 78**
	发芽率	-0.945 27**	0.994 05**		发芽率	-0.948 02**	0.990 46**
丹341	发芽势	-0.944 89**	0.921 25**				
	发芽率	-0.985 87**	0.969 67**				

*表示相关性显著;**表示相关性极显著。

参考文献:

- [1] 郑州工程学院粮油储藏教研室. 粮油储藏学试验指导[M]. 郑州:郑州工程学院,2000:13-18.
- [2] 徐本美. 测定种子活力方法的探讨——IC 定量法[J]. 种子, 1998,17(4):12-14.
- [3] 颜启传,胡伟民,宋文坚. 种子活力测定的原理和方法[M]. 北京:中国农业出版社,2006:5-126.
- [4] 浦心春,韩建国,毛培胜,等. 加速老化对高羊茅种子生理生化特性的影响[J]. 草地学报,1998,6(3):191-196.
- [5] 赵丽芳,张旭霞,王 疑,等. 自然贮藏条件对棉花种子发芽率影响分析[J]. 中国棉花,2002,29(1):19-20.
- [6] 刘明久,王铁固,陈士林,等. 玉米种子人工老化过程中生理特性与种子活力的变化[J]. 核农学报,2008,22(4):510-513.
- [7] MODARRESI R, RUCKER M, TEKRON D M. Accelerated ageing test for comparing wheat seed vigour[J]. Seed Science and Technology, 2002, 30:683-687.
- [8] MARCOS-FILHO J, BENNETT M A, MCDONALD M B, et al. Assessment of melon seed vigor by and automated computer imaging system compared to traditional procedures[J]. Seed Sci & Techno, 2006,34:485-497.
- [9] PUKACKA S, HOFMANN S K, GOSLAR J, et al. Water and lipid relations in beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds and its effect on storage behavior[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2003, 1621:48-56.
- [10] 胡 晋. 对种子活力测定方法——TTC 定量法的修进[J]. 种子,1986(5):71-72.
- [11] 马金虎,王宏富,王玉国,等. 高温老化对棉花种子发芽及生理特性影响的研究[J]. 棉花学报,2005,17(1):42-46.
- [12] 乔燕祥,高平平,马俊华,等. 两个玉米自交系在种子老化过程中的生理特性和种子活力变化的研究[J]. 作物学报,2003,29(1):123-127.