

## 增强UV-B辐射对甘草种子萌发及 幼苗形态的影响

方媛<sup>1</sup>,于海宁<sup>1</sup>,程曦<sup>1</sup>,路洁<sup>1</sup>,彭励<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>宁夏大学生命科学学院,银川 750021;<sup>2</sup>种苗生物工程国家重点实验室,银川 750004)

**摘要:**以干旱半干旱地区分布的乌拉尔甘草、光果甘草为研究对象,系统的研究了增强UV-B辐射对2种甘草种子萌发特性、幼苗形态和生物量的影响及种子萌发第1、3、5、7天时过氧化氢酶(CAT)活性的变化。结果表明:增强UV-B辐射对2种甘草种子最终发芽率、发芽势和发芽指数并无显著影响;增强UV-B辐射极显著抑制2种甘草种子萌发期间胚根和下胚轴伸长,降低2种甘草幼苗生物量且致使幼苗下胚轴及胚根外部颜色明显发生变化,呈黄褐色;增强UV-B辐射处理初期,2个品种甘草CAT酶活性均显著高于对照,随着处理天数的增加,CAT酶活性开始下降。因此认为:增强UV-B辐射处理后,能启动甘草幼苗体内的抗氧化防御系统,但最终仍导致甘草幼苗体内活性氧代谢紊乱,可能对甘草细胞膜系统造成伤害,出现膜脂过氧化。

**关键词:**UV-B辐射;甘草种子;萌发;CAT活性

中图分类号:Q945.34

文献标识码:A

论文编号:2009-1784

### Effect of Enhanced UV-B Radiation on Seed Germination and Seedling Morphology of *Glycyrrhizic*

Fang Yuan<sup>1</sup>, Yu Haining<sup>1</sup>, Cheng Xi<sup>1</sup>, Lu Jie<sup>1</sup>, Peng Li<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Life Science College of Ning Xia University, Yin Chuan 750021;

<sup>2</sup>State Key Laboratory of the Seedling Bio-engineering, Yin Chuan 750004)

**Abstract:** Effect of enhanced UV-B radiation on seed germination property, seedling morphology, biomass and the change of catalase (CAT) activity when the seed germinated at 1 day, 3 days, 5 days, 7 days respectively of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* which were distributed in arid-semiarid region have been studied. The results showed: the effect of enhanced UV-B radiation on the seed germination percentage, germination energy and germination index of the two types seed were not significant; enhanced UV-B radiation could significantly inhibit the elongation, decrease the biomass and cause the external color significantly became brown of radicle and hypocotyl of the two types seed during germination; At early period of treatment, CAT activity of the two types seed were significantly higher than control, but with the treatment time increased, CAT activity decreased. Therefore, the author considered that the UV-B radiation treatment could start the antioxidant defense system of *Glycyrrhizic* seedling, but finally it still could result in disorder of the ROS metabolism and probably do great harm to the membrane system. At the end, membrane lipid peroxidation appeared.

**Key words:** UV-B radiation; *Glycyrrhizic* seed; germination; catalase activity

### 0 引言

太阳紫外线B(UV-B, 280~320 nm)辐射是太阳辐射光谱中能部分到达地表,且对地球上的生物构成伤

害的一段电磁光谱。目前,臭氧层变薄、太阳紫外辐射增强及其引起的生态环境效应已成为全球性的环境问题,受到普遍关注。药用植物甘草为豆科甘草属

基金项目:国家自然科学基金(30860021)。

第一作者简介:方媛,女,1986年出生,在读硕士研究生,研究方向:环境胁迫对植物生长发育的影响。通信地址:750021 宁夏银川市宁夏大学B区8号楼507室,E-mail:fy0317@163.com。

通讯作者:彭励,女,博士,教授,硕士生导师,研究方向:药用植物资源、结构植物学。E-mail:pengli1124@163.com。

收稿日期:2009-09-02,修回日期:2009-10-23。

(*Glycyrrhiza* Linn.)多年生草本植物,是中国重要的传统大宗药材之一,在中国不仅使用历史悠久,而且范围广泛。随着国内外甘草的市场需求量不断增加,供求矛盾十分突出,长期的滥采滥挖,导致野生甘草资源十分匮乏,有的地方甚至濒临枯竭,因此甘草的人工栽培显得越来越重要。目前甘草的人工种植仍以播种育苗移栽为主,近年来关于甘草人工种植的研究非常活跃,并已有大量报道呈现<sup>[1-3]</sup>。但播种后环境胁迫对甘草种子萌发的影响研究较少,而增强UV-B辐射对甘草种子萌发的影响目前尚未见报道。因此,笔者以甘草种子为材料,研究增强UV-B辐射对不同品种甘草种子萌发特性的影响及种子萌发期间保护酶系统之一的过氧化氢酶(CAT)活性的变化情况,旨在为探讨UV-B辐射对种子萌发的影响及甘草的人工种植提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于2008年3月在宁夏大学生命科学学院实验楼进行。乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)种子采自宁夏盐池,光果甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)种子采自新疆石河子大学。

### 1.2 种子处理

种子培养及处理在宁夏大学生命科学学院植物组织培养室内进行。挑选饱满、均匀的2种甘草种子分别用浓硫酸处理约20 min,后用自来水冲洗数遍直至中性,5%次氯酸钠消毒3~5 min,用蒸馏水冲洗数遍,于水中浸泡12~14 h,待种子充分吸胀后,将种子放入铺有两层无菌滤纸的培养皿中,每皿50粒,设每100粒为一个重复,每处理重复3次。

### 1.3 培养条件及处理

将处理好的种子分为两组,以正常光照为对照组,以增强UV-B辐射为处理组,对照组光源为日光灯管,光照强度为2000 lx,光照时间为:光照/黑暗各12 h。处理组光源为日光灯管+UV-313荧光灯管(北京电光源研究所生产),UV-B辐照强度为50  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ,光照时间为:光照/黑暗各12 h。对照组和处理组培养温度均为(25 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度70%。在培养期间始终保持2

组种子滤纸湿润。观察记录每天种子的发芽数、计算发芽率和发芽指数。

发芽率=前7天内发芽的种子数/皿中供试种子数 $\times$ 100%;

发芽指数= $\sum Gt/Dt$ ( $Gt$ 为第 $t$ 天的发芽增值数, $Dt$ 为相应时间的发芽天数)<sup>[4]</sup>;

### 1.4 幼苗形态及生物量观察

种子萌发7天后,观察幼苗形态并拍照记录,测量幼苗胚根长、下胚轴长及其干鲜重。

### 1.5 过氧化氢酶(CAT)活性的测定:

采用紫外吸收法<sup>[5]</sup>:取已萌动发芽的甘草种子去皮准确称取200 mg置研钵中,加入0.2 mol/L、pH=7.8的磷酸缓冲溶液少许,研磨至匀浆,将匀浆转移至10 mL容量瓶中,用同一缓冲溶液冲洗研钵数次至干净无残余,将冲洗液一并转移至容量瓶中,用同一缓冲液定容到刻度,接着将此液于4000 r/min下离心15 min,上清液即为CAT的粗提液。取10 mL试管数支,分为测定和对照两组,测定管中加入不同处理下酶液0.2 mL,对照管(S0)加入不同处理下煮死酶液0.2 mL,然后逐管加入pH 7.8的磷酸缓冲液1.5 mL,蒸馏水1.0 mL,每处理重复3次(S1, S2, S3)。25  $^{\circ}\text{C}$ 预热后,逐管加入0.3 mL 0.1 mol的 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,每加完1管立即记时,并迅速倒入石英比色皿中,以pH 7.8的磷酸缓冲液为对照调零,240 nm下测定吸收度,每隔一分钟读数1次,共测4 min,待全部测完后按下式计算酶活性,以1 min内 $A_{240}$ 减少0.1的酶量为一个酶活单位(U)。

$$\text{CAT酶活性}/(\text{U}/(\text{gmin}))=\Delta A_{240}\times V_7/0.1\times V_1\times t\times W$$

式中: $\Delta A_{240}$ : $A_{S0}-(A_{S1}+A_{S2}+A_{S3})/3$ ;  $A_{S0}$ :加入煮死酶液的对照管吸光值;  $A_{S1}$ ,  $A_{S2}$ ,  $A_{S3}$ ——测定管吸光值。  $V_7$ :粗酶提取液总体积(mL);  $V_1$ :测定用粗酶液体积(mL);  $W$ :样品鲜重(g); 0.1:  $A_{240}$ 每下降0.1为1个酶活单位(U);  $T$ :加过氧化氢到最后一次读数时间(min)。

## 2 结果与分析

### 2.1 增强UV-B辐射对2种甘草种子萌发特性的影响

由表1可见:增强UV-B辐射在一定程度上增加了2种甘草种子的发芽势,处理比对照分别增加了5.7%,

表1 增强UV-B辐射对甘草种子发芽势、发芽率和发芽指数的影响

| 项目        | 发芽率/%              |                    | 发芽势/%              |                 | 发芽指数                |                     |
|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|---------------------|---------------------|
|           | 乌拉尔                | 光果                 | 乌拉尔                | 光果              | 乌拉尔                 | 光果                  |
| 对照        | 85.67 $\pm$ 0.04a  | 93.67 $\pm$ 0.032a | 64 $\pm$ 0.043a    | 80 $\pm$ 0.061a | 25.977 $\pm$ 1.509a | 29.709 $\pm$ 1.139a |
| 处理        | 87.67 $\pm$ 0.021a | 92 $\pm$ 0.03a     | 67.67 $\pm$ 0.101a | 82 $\pm$ 0.05a  | 26.776 $\pm$ 1.554a | 29.617 $\pm$ 1.324a |
| 处理比对照下降/% | -2.3               | 1.8                | -5.7               | -2.5            | -3.1                | 0.3                 |

注:\*表中数据为3次重复的平均值。显著性比较限于同一时间、同一品种的处理与对照之间,小写字母差异表示0.05显著水平,大写字母差异表示0.01极显著水平。下同。

2.5%，但差异不显著( $P>0.05$ ，见表1)。处理组乌拉尔甘草种子发芽率、发芽势和发芽指数均高于对照，比对照分别增加2.3%，5.7%，3.1%，差异不显著( $P>0.05$ )。而处理组光果甘草种子发芽势高于对照，比对照增加2.5%，差异不显著( $P>0.05$ )，发芽率和发芽指数均低于对照，比对照分别降低1.8%，0.3%，差异不显著( $P>0.05$ )。此外甘草种子萌发存在种间差异，表现为：对照组和处理组光果甘草的发芽势、发芽率和发芽指数都显著高于乌拉尔甘草。

### 2.2 增强UV-B辐射对2种甘草幼苗生物量及形态的影响

由表2可见：增强UV-B辐射极显著抑制了2种甘草种子萌发期间胚根和下胚轴伸长，使甘草种子胚根

和下胚轴明显短于对照组(见表2，图1、2)。与对照组相比，处理组乌拉尔甘草和光果甘草胚根长分别比对照组下降31.1%，34.7%，下胚轴长分别比对照组下降13.3%，15.7%，差异均达极显著水平( $P<0.01$ )。增强UV-B辐射极显著降低了2种甘草胚根鲜重、干重，下胚轴鲜重干重。与对照组相比，处理组乌拉尔甘草和光果甘草胚根鲜重分别比对照组下降51.1%，49.0%，胚根干重分别比对照下降71.8%，65.7%，下胚轴鲜重分别比对照下降23.4%，17.5%，下胚轴干重分别比对照下降43.6%，6.6%，差异均达极显著水平( $P<0.01$ )。此外，增强UV-B辐射处理组幼苗下胚轴及胚根颜色也发生了明显变化，与对照组的白色相比，处理组下胚轴及胚根颜色明显变黄(见图1、图2)。

表2 增强UV-B辐射对甘草幼苗生物量影响

| 项目       | 乌拉尔甘草      |             |           | 光果甘草       |             |           |
|----------|------------|-------------|-----------|------------|-------------|-----------|
|          | 对照         | 处理          | 处理比对照下降/% | 对照         | 处理          | 处理比对照下降/% |
| 胚根长/cm   | 1.32±0.30A | 0.91±0.31B  | 31.1      | 0.75±0.24A | 0.49±0.16B  | 34.7      |
| 下胚轴长/cm  | 0.98±0.17A | 0.85±0.19B  | 13.3      | 0.51±0.11A | 0.43±0.08B  | 15.7      |
| 胚根鲜重/mg  | 6.83±3.09A | 3.34±1.25B  | 51.1      | 5.2±3.16A  | 2.65±1.10B  | 49.0      |
| 下胚轴鲜重/mg | 18.7±5.25A | 14.33±4.05B | 23.4      | 9.98±5.35A | 8.23±2.65 B | 17.5      |
| 胚根干重/mg  | 0.71±0.22A | 0.20±0.06B  | 71.8      | 0.67±0.11A | 0.23±0.08B  | 65.7      |
| 下胚轴干重/mg | 1.65±0.37A | 0.93±0.33B  | 43.6      | 0.76±0.29A | 0.71±0.20B  | 6.6       |

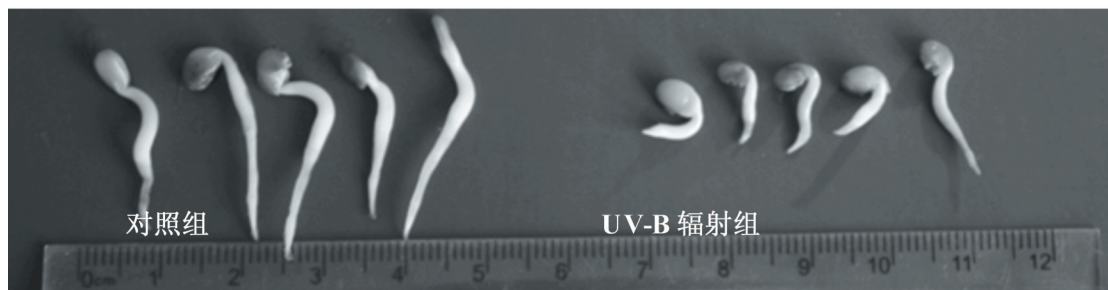


图1 处理7天后，乌拉尔甘草对照组和处理组种子生长状况

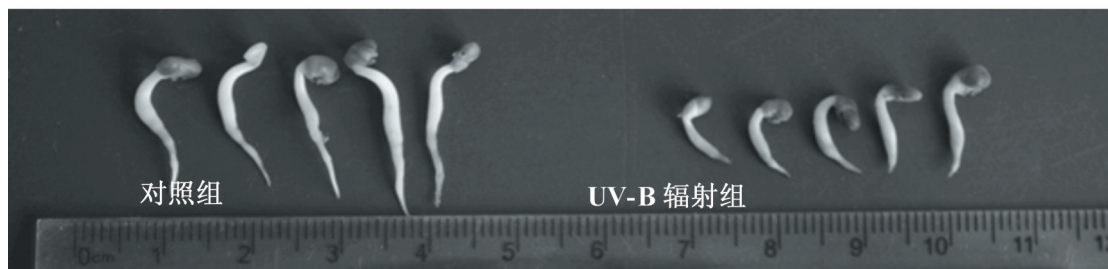


图2 处理7天后，光果甘草对照组和处理组种子生长状况。

### 2.3 增强UV-B辐射对2种甘草种子萌发过程中CAT酶活性的影响

从表3和图3可见：在甘草种子萌发初期，与对照组相比，处理组乌拉尔甘草和光果甘草种子过氧化氢酶(CAT)活性有上升的趋势。在萌发第1~3天时，处

理组2种甘草种子过氧化氢酶的活性均极显著高于对照，以后随着光照时间的增加过氧化氢酶的活性逐渐下降。乌拉尔甘草种子萌发1~5天，处理组CAT酶活性均极显著( $P<0.01$ )高于对照(见表3、图3)，这有助于防止活性氧毒害的产生，但到第7天时处理组CAT

酶活性迅速下降,极显著( $P<0.01$ )低于对照(见表3、图3)。而光果甘草种子萌发前3天,处理组CAT酶活性极显著( $P<0.01$ )高于对照,第5~7天处理组CAT酶

活性也开始下降,极显著( $P<0.01$ )低于对照。这说明随着处理时间的延长,CAT酶活性明显降低,防止活性氧毒害的能力也逐渐减弱(见图3)。

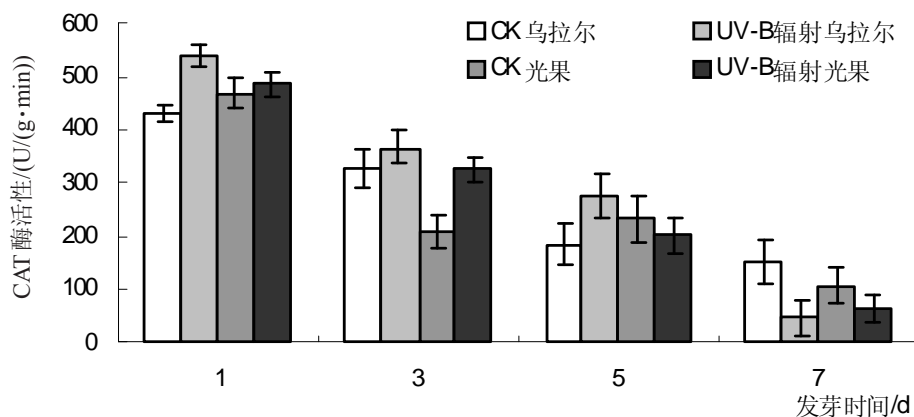


图3 增强UV-B辐射对甘草种子萌发过程中CAT酶活性的影响

### 3 讨论

发芽率指测试种子发芽数占测试种子总数的百分比,是检测种子质量的重要指标之一。农业生产上常常依此来计算用种量。发芽势是指种子发芽初期它在规定时间内能正常发芽的种子粒数占供检种子粒数的百分率,可衡量种子发芽的整齐度。大量研究表明各种环境因素也会影响种子的萌发。梁新华<sup>[6]</sup>研究干旱胁迫对甘草种子萌发的影响发现干旱胁迫对甘草种子的萌发产生一定的抑制作用。王传海等<sup>[7]</sup>研究紫外辐射增加对作物种子发芽及幼苗生长的影响,发现增加UV-B辐射,供试3种作物种子的发芽率、发芽势、发芽指数均表现不同程度的下降。王延琴等<sup>[8]</sup>研究水分胁迫对棉花种子萌发的影响发现,随着水势的下降,棉花种子的发芽率、发芽速度、发芽指数等都出现不同程度的降低。而笔者发现,增强UV-B辐射对乌拉尔甘草和光果甘草2种甘草种子的最终发芽率、发芽势及发芽指数的影响并不显著。这与之之前UV-B辐射增加能显著延缓作物种子的发芽进程,降低种子发芽整齐度的结论<sup>[7]</sup>有些不同。说明增强UV-B辐射对种子萌发的影响程度存在种间差异,并不是所有种子发芽进程和发芽整齐度都受增强UV-B辐射的影响,这可能与种子的遗传特性有关,因为甘草是一种抗逆性极强的沙漠植被,种子本身的抗逆性可能比较强,但要进一步弄清这一问题还有待深入的研究,而且这仅是室内条件下得出的结论,大田试验条件下,2种甘草种子表现如何还有待于进一步研究。

大量研究表明,UV-B辐射对植物形态结构、生长发育、生理生化、生物量和产量等多方面均有影响<sup>[7,9-14]</sup>。植物生物量是衡量UV-B辐射增强对植物生长影响的

一个很好的指标。UV-B辐射增强能够降低植物的光合速率和生物产量<sup>[11]</sup>。一般来说,在UV-B辐射增强下,植物如大豆、小麦和水稻等表现出生物量降低,但也有增加或不改变的现象<sup>[15]</sup>。UV-B辐射的增加使绝大多数植物表现出植株矮化。Barnes<sup>[16]</sup>等研究发现UV-B辐射增加可使植物矮化,节间缩短。唐莉娜等<sup>[14]</sup>研究UV-B增加对水稻生长发育及其产量形成的影响,发现UV-B辐射增强明显抑制水稻生长,在形态上表现为植株矮化,叶面积减少,分蘖数下降,根系发育受阻,最终导致水稻生物量下降。作者认为UV-B辐射增强抑制水稻生长,除与其抑制光合作用物质合成有直接关系外,可能还与光氧化造成植株体内IAA含量下降有关。UV-B辐射增加致使水稻叶片净光合速率下降,光合作用受抑制,减少了物质的合成,不利于地上部和根系发育,根系吸收功能的降低又进一步限制地上部的生长和光合作用等生理活动,最终导致生物量和籽粒产量下降。在笔者的研究中发现增强UV-B辐射使2种甘草种子萌发初期的胚根干鲜重和下胚轴干鲜重都降低,2种甘草幼苗根长和下胚轴长度缩短,结果与以往有关增强UV-B辐射对植物生长及生物量的影响结论一致。笔者还发现增强UV-B辐射使甘草萌发初期胚根鲜重和下胚轴鲜重下降,说明增强UV-B辐射使植物细胞中自由水含量也受到抑制。此外,增强UV-B辐射使2种甘草幼苗下胚轴及胚根颜色发生明显变化,与对照组的白色相比,处理组下胚轴及胚根颜色明显变黄,究其原因还有待更深入的研究。

植物在正常的生长发育过程中,其体内代谢活动的进行必然会导致活性氧自由基的产生,同时植物体

自身产生的一种保护酶系统可维持活性氧自由基含量于有利无害的水平,以保证体内代谢的正常进行。过氧化氢酶(CAT)是植物体内的保护酶之一,它是重要的抗氧化酶,可以清除过氧化氢,减少有害的羟基自由基产生,防止膜脂的过氧化作用,保护膜膜的完整性。有关UV-B辐射对植物活性氧代谢影响方面的报道较多,大多集中在抗氧化酶活性的研究上,但得出的研究结果存在差异,甚至相反,这可能与试验所选材料和试验进行的环境条件有关<sup>[17]</sup>。笔者的研究结果发现:在增强UV-B辐射处理的前期,2种甘草幼苗处理组的CAT酶活性都比对照组的高。说明在增强UV-B辐射初期,甘草种子体内产生了较正常情况下更多的自由基,为了最大限度维持其正常萌发生长,便诱导合成更多数量的保护酶,以平衡清除这些自由基。但随着处理时间的延长,CAT酶活性明显降低,防止活性氧毒害的能力逐渐减弱。表现为:在处理第5天时,光果甘草幼苗CAT酶活性极显著低于对照,处理第7天时,乌拉尔甘草幼苗CAT酶活性也下降,极显著低于对照。UV-B处理条件下,CAT酶活性发生先增高后降低的变化,这一结果与刘清华等<sup>[18]</sup>对银杏的研究和吴业飞等<sup>[19]</sup>对葡萄的研究结果相一致。UV-B辐射下甘草幼苗CAT酶活性的迅速降低可能是因为O<sub>2</sub>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>钝化作用的结果<sup>[20]</sup>,但仍需进一步研究以证实。

综上所述,可以看出增强UV-B辐射对种子最终发芽率、发芽进程和发芽整齐度并无显著影响。但增强UV-B辐射极显著抑制了2种甘草种子萌发期间胚根和下胚轴伸长,降低2种甘草胚根鲜重、干重,下胚轴鲜重、干重,使幼苗下胚轴及胚根颜色明显变黄。此外,增强UV-B辐射处理后,2种甘草种子CAT酶活性有先增高后降低的趋势,说明UV-B辐射能启动甘草幼苗体内的抗氧化防御系统,但UV-B辐射最终仍导致甘草幼苗体内活性氧代谢紊乱,可能对甘草细胞膜系统造成伤害,出现膜脂过氧化。但笔者的研究仅是室内条件下得出的结论,大田试验情况下,二者表现如何还有待于进一步研究。

### 参考文献

[1] 魏昭智,李剑中.采挖期和采挖深度对人工甘草品质和产量效益的影响[J].草业科学,2006,23(8):21-23.

- [2] 杨发林,李克昌.甘草种子人工繁育暨配套栽培技术研究初探[J].草业科学,2004,21(12):90-94.
- [3] 邵晓林.甘草人工栽培技术[J].甘肃农业科技,2003(4):34.
- [4] 杨和连,车灵艳,卢二乔.重金属铬对西葫芦种子发芽及出苗的影响[J].种子,2004,23(6):60-62.
- [5] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000:168-169.
- [6] 梁新华.干旱胁迫对甘草种子萌发及CAT活性的影响[J].宁夏农林科技,2004,3:1-3.
- [7] 王传海,郑有飞,王长建,等.紫外辐射增加对作物种子发芽及幼苗的影响[J].中国农业气象,2000,21(3):33-35.
- [8] 王延琴,杨伟华,许红霞,等.水分胁迫对棉花种子萌发的影响[J].棉花学报,2009,21(1):73-76.
- [9] Ziska L H, Terammura A H, Sullivan J H. Physiological sensitivity of plant along an elevational gradient to UV-B radiation[J]. Am. J. Bot., 1992, 79:863-871.
- [10] 李海涛,庄欠来,沈文清.由臭氧层衰竭导致的UV-B辐射增加对陆生植物的影响[J].世界科技研究与发展,2001,23(4):63-71.
- [11] 侯扶江,贡桂英,颜景义,等.田间增加紫外线(UV)辐射对大豆幼苗生长和光合作用的影响[J].植物生态学报,1998,22(3):256-261.
- [12] Ruh land C T, Day T A. Changes in UV-B radiation screening effectiveness with leaf age in *Rhododendron maximum*[J]. Plant Cell Environ, 1996, 19:740-746.
- [13] 王传海,郑有飞,王长建,等.紫外线UV-B增加对小麦开花及结实率的影响[J].农业环境保护,2000,19(4):221-223.
- [14] 唐莉娜,林文雄,吴杏春,等.UV-B辐射增强对水稻生长发育及其产量形成的影响[J].应用生态学报,2002,13(10):1278-1282.
- [15] Kim H Y, Kobayashi K, Nouch I, et al. Enhanced UV-B radiation has little effect on growth, Vc values and pigments of pit grown ices (*Oryza Sativa*) in the field[J]. Plant Physiol, 1996, 96:1-5.
- [16] Barnes P W, Strid A, Rosen G M, et al. Morphological response of crop and weed species of different growth forms to UV-B radiation [J]. Amer J Bot, 1981, 77(10):1354-1360.
- [17] WILLEKENS H, CAMPW V, MONMTAGU M V, et al. Ozone, Sulfur Dioxide and Ultraviolet-B Have Similar Effects on mRNA Accumulation of Antioxidant Genes in *Nicotiana plum baginifolia* [J]. Plant Physiol, 1994, 106:1007-1014.
- [18] 刘清华,钟章成.紫外线-B辐射对银杏活性氧代谢及膜系统的影响[J].西华师范大学学报,2007,28(2):148-153.
- [19] 吴业飞,吴鲁阳,张振文.紫外线-B辐射增强对葡萄叶片抗氧化系统的影响[J].西北农林科技大学学报,2008,36(12):161-166.
- [20] HERTW IG B, STREB P, FEIERABEND J. Light Dependence of Catalase Synthesis and Degradation in Leaves and the Influence of Interfering Stress Conditions[J]. Plant Physiol. 1992, 100:1547-1553.