

盐分胁迫下 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种对棉种发芽及其生理特性的影响

陶瑞, 刘涛, 褚贵新*

(石河子大学农学院 / 新疆生产建设兵团绿洲生态农业重点实验室, 石河子 832003)

摘要: 通过设置 0、80、120 mmol·L⁻¹ 3 种 NaCl 浓度, 研究了 3 种盐分水平下 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种对棉种发芽的影响, 分析了棉种萌发过程中可溶性蛋白、可溶性糖、抗氧化酶及丙二醛含量对 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种的生理响应。结果表明, 盐分胁迫显著抑制了棉种的萌发, 而 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种能明显减轻盐分胁迫对种子发芽的抑制。在 3 个盐分水平(0、80、120 mmol·L⁻¹)下, 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种处理的发芽率、发芽势及种子活力指数均比清水浸种有显著提高, 其增幅分别为 11.5%~58.4%、16.8%~65.0% 和 42.9%~82.5%; 同时, 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种可显著提高棉种 SOD、POD、CAT 的活性, 分别比清水浸种增加了 57.2%~282.7%、8.3%~139.3% 和 6.4%~15.1%, 且显著降低了电解质外渗率与 MDA 含量。在盐分胁迫下, 利用 4.1×10⁻³ mmol·L⁻¹ 的 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶浸种可提高棉种抗氧化酶活性, 促进其萌发过程中可溶性有机物的转化, 显著提高棉种发芽率和发芽势。

关键词: 2-氯-6-(三氯甲基)吡啶; 盐分胁迫; 棉种; 发芽率; 酶活性

中图分类号: Q945.34 文献标志码: A

文章编号: 1002-7807(2013)05-0426-06

Effects of Nitrapyrin Soaking on Cotton Germination Rate and Its Salt Resistant Physiological Characteristics in Salt Stress Condition

TAO Rui, LIU Tao, CHU Gui-Xin*

(Department of Resources and Environmental Science, Agronomy College, Shihezi University / Key Laboratory of Oasis Ecoagriculture of Xinjiang Production and Construction Corps, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

Abstract: A stimulation experiment was carried out to investigate the effect of nitrapyrin soaking of cotton seed on cotton germination rate under different salt stress conditions (0, 80, 120 mmol·L⁻¹ NaCl). Meanwhile, cotton seed activities of antioxidantase and contents of seed water-soluble sugar, water-soluble protein, antioxidant enzymes and malondialdehyde (MDA) in cotton seed were measured during the cotton seed germination process. An obvious inhibition effect on cotton seed germination was observed under salt stress; but nitrapyrin soaking treatments significantly increased cotton seed germination rates, germination potential, and cotton seed vigor index. Compared with water soaking treatment, germination rate increased by 11.5%~58.4%, germination potential increased by 16.8%~65.0% and cotton seed vigor index increased by 42.9%~82.5% when using nitrapyrin soaking treatment at the same salt concentration level, indicating nitrapyrin soaking plays a significant role on alleviating the salt inhibition effect of cotton seed germination. Nitrapyrin soaking treatments statistically increased cotton seed enzyme activities. Compared with water soaking treatment, enzyme activities of SOD, POD, CAT increased by 57.2%~282.7%, 8.3%~139.3% and 6.4%~15.1% with nitrapyrin soaking treatments at the same salt concentration level, respectively. Furthermore, cotton seed electrolyte leakage rate and MDA content of nitrapyrin soaking were lower than that of the water soaking treatment, and the nitrapyrin soaking treatment markedly increased water soluble organic substance content in cotton seed, namely, there has a significant effect of nitrapyrin soaking on promotion of complex organic substances transformed to water soluble organic substances during the germination process. In conclusion, through 4.1×10⁻³ mmol·L⁻¹ 2-chloro-6-

收稿日期: 2013-05-18

作者简介: 陶瑞(1990-), 男, 硕士研究生, taorui15001619715@163.com; * 通讯作者, chuguixinshzu@163.com

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费(200903001-04)

(trichloromethyl) pyridine soaking exert a significant effect on increasing cotton seed germination rate, promoting its salt resistant physiological characteristics under salt stress conditions.

Key words: 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine; salt stress; cotton seed; germination rate; enzyme activity

土壤盐渍化是新疆绿洲棉田一种主要的障碍因子,盐碱导致种子发芽迟缓、发芽率低、幼苗生长缓慢,是限制作物产量提高的主要因素。采取有效措施促进棉种萌发、提高棉种发芽率是培育壮苗全苗、实现盐渍农田高产的前提。前人研究表明,用一定剂量的化学制剂进行种子预处理,可解除其休眠,提高生理酶活性及产生抗逆活性物质,从而达到促苗早发的目的。韩志平等^[1]发现较低浓度水杨酸浸种可缓解盐胁迫对西瓜种子萌发和幼苗生长的抑制,提高西瓜种子的发芽率。杨建肖等^[2]报道,0.1~10 mmol·L⁻¹的氯化钾处理能显著提高玉米种子的发芽势、发芽指数和提高抗氧化酶活性,促进发芽。汤菊香等^[3]用GA和Mn²⁺混合液浸种,明显提高了棉花种子发芽的耐盐性。翟乃家等^[4]研究发现,600 μg·mL⁻¹甜菜碱浸种可显著促进棉种的萌发,刘建凤等^[5]用0.5~1.0 g·L⁻¹的硫酸锰对玉米进行浸种,也能显著提高发芽率。以上研究表明,一些无机类物质、激素类物质、微量元素等均可用于种子的化学处理,能促进作物种子萌发、增强种子抗逆性和改善种子活力。

2-氯-6-(三氯甲基)吡啶简称氯甲基吡啶(Nitrapyrin),近年来,它作为一种高效硝化抑制剂被广泛应用于农田。已有的研究表明,氯甲基吡啶配合氮肥施用对抑制土壤硝化、实现增铵营养、提高氮肥利用率以及减少农田N₂O排放等方面发挥了显著作用^[6,9]。在生产实践中发现,施用氯甲基吡啶可明显提高盐渍化农田棉种的发芽率,且出苗快,但其对种子萌发影响的机理却少有报道。本研究通过模拟试验,在盐胁迫条件下探讨了氯甲基吡啶处理对棉种萌发及发芽生理的影响,以期在盐渍化农田推广应用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试棉花品种为新陆早45号(*Gossypium hirsutum*);氯甲基吡啶乳油(Nitrapyrin),有效含量24%,由浙江奥复托公司提供。本研究所用的氯甲

基吡啶浸种浓度(4.1×10⁻³ mmol·L⁻¹)由预试验筛选得出。

1.2 试验设计

试验设4.1×10⁻³ mmol·L⁻¹氯甲基吡啶浸种和清水浸种(CK),分别在0、80、120 mmol·L⁻¹ 3个NaCl梯度下进行培养,共计6个处理,8次重复,其中4次重复用来测定发芽指标,另外4次重复用来测定萌发种子生理生化指标。

1.3 试验方法

1.3.1 种子萌发试验。棉花种子用6%的H₂O₂消毒5 min,阴干备用。消毒后的种子分别用清水与4.1×10⁻³ mmol·L⁻¹浓度的氯甲基吡啶浸种24 h,取出后用蒸馏水反复冲洗3~4次,室温条件下晾干,将种子整齐摆放于经高压蒸汽灭菌且垫有2层滤纸的9 cm培养皿中,每个培养皿30粒。培养皿放在GXZ型智能光照培养箱,然后分别在0、80、120 mmol·L⁻¹的NaCl浓度下进行培养。培养温度为(28±1)℃,光暗周期为14 h:10 h。萌发过程中,每天加入相对应浓度的NaCl溶液。每天观察记录正常萌发种子数,待培养24 h后取芽长大于种子身长的种子用来测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,并对丙二醛(MDA)、可溶性糖和可溶性蛋白的含量进行分析,第4天测定发芽势,第7天测定发芽率。

1.3.2 种子萌发参数测定。发芽率=第7天的发芽种子数/供试种子数×100%,发芽势=第4天的发芽种子数/供试种子数×100%。

发芽指数 $GI = \sum G_t/D_t$,式中 G_t 为 t 日内的发芽数, D_t 为相应的发芽天数。

活力指数: $VI = GI \times S^{100}$ 。式中 GI 为发芽指数, S 为单株幼苗干物质质量(g)。

幼苗生物量测定。完成发芽试验后,用蒸馏水洗净各培养皿幼苗并吸干外部水分,用万分之一电子天平称量每个培养皿总幼苗鲜质量,于烘箱中105℃杀青20 min,再在80℃下连续烘干48 h,称干物质质量。

电解质外渗率测定。参照张志良^[10]的方法,略

有改动。首先,用清水和 $4.1 \times 10^{-3} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯甲基吡啶溶液浸泡棉种 24 h, 然后取种子各 200 粒, 每 50 粒为一次重复, 共 4 次, 用蒸馏水洗净, 用滤纸吸干后加入 500 mL 锥形瓶中, 加蒸馏水 250 mL, 培养 24 h 后摇匀过滤到 250 mL 烧杯中, 测定棉种外渗液电导率 (DDS-307 型电导率仪)。同时, 取浸种后的种子各 200 粒, 用蒸馏水洗净、吸干, 将种子放在 500 mL 烧杯, 加入蒸馏水 250 mL, 在电炉上煮沸 20 min (此时种子已失活), 冷却后滴加蒸馏水至加热前的刻度, 摇动烧杯使溶液均匀并过滤到 250 mL 烧杯中, 测定 100 °C 煮沸棉种外渗液电导率。计算公式为: 电解质外渗率 (%) = 未加热处理的棉种外渗液电导率 / 100 °C 煮死棉种外渗液电导率 $\times 100\%$ [12]。

1.3.3 生理生化指标测定。 浸种后培养 24 h 取萌发种子测定生理生化指标。SOD 活性测定采用氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法 [13], POD 活性测定参考 Xu 和 Ye 的方法 [14], CAT 活性测定采用紫外分光光度法 [13]。MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法 [13], 可溶性糖含量采用蒽酮比色法 [15] 测定, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法 [16] 测定。

1.4 数据分析

用 Excel 2003 进行数据原始处理, 运用 Graphpad prism 5.0 软件 (Graphpad software, Inc., USA) 进行两因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 氯甲基吡啶浸种对棉种萌发的影响

由表 1 可知, 氯甲基吡啶浸种可极显著提高棉种发芽势、发芽率、种子活力指数 ($P < 0.01$), 单株幼苗干物质质量有增加的趋势但差异不显著; 而盐分则明显降低了棉种发芽率和单株幼苗干物质质量 ($P < 0.05$)。在 0、80、120 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个盐分水平下, 氯甲基吡啶浸种处理的棉种发芽势分别比清水处理提高了 16.8%、65.0% 和 52.3%, 种子活力分别提高了 42.9%、82.6% 和 55.9%, 发芽率则分别提高 11.5%、58.4% 和 55.6%。在无盐胁迫条件下, 氯甲基吡啶浸种的单株幼苗干物质质量较清水浸种仅增加了 0.3%; 当 NaCl 浓度升高为 80 和 120 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 氯甲基吡啶浸种处理的单株幼苗干物质质量则分别比清水浸种增加了 9.7% 和 9.9%。由此说明, 在盐分胁迫条件下, 氯甲基吡啶浸种可明显提高棉花种子活力指数与发芽势, 缩短了棉种发芽时间。

2.2 氯甲基吡啶浸种对棉种抗氧化酶活性的影响

由图 1 可知, 氯甲基吡啶浸种极显著增加了 SOD、POD 和 CAT 的活性 ($P < 0.01$)。对于 POD 和 CAT 活性, 中等浓度盐分 (80 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 有刺激作用, 而高浓度盐分 (120 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 则抑制; SOD 活性随盐分浓度增加而极显著升高 ($P < 0.01$)。在 3 种盐分水平 (0、80、120 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 下, 氯甲基吡啶浸种均提高了棉种的 SOD、POD 与 CAT 活性,

表 1 氯甲基吡啶浸种对棉花种子萌发的影响

Table 1 Effect of nitrapyrin soaking on seed germination of cotton

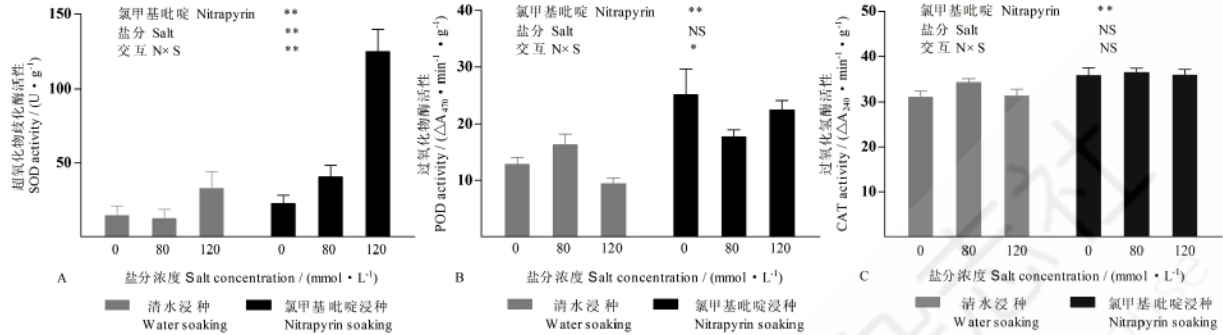
盐分浓度 Salt content / ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	处理 Treatment	发芽势 Germination potential / %	发芽率 Germination rate / %	活力指数 Vigor index / %	单株幼苗干物质质量 Seedling dry weight per plant / mg
0	清水浸种 Water soaking	57.8 ± 0.11	74.3 ± 0.13	1.4 ± 0.19	48.2 ± 5.2
	氯甲基吡啶浸种 Nitrapyrin soaking	67.5 ± 0.03	81.7 ± 0.02	2.0 ± 0.17	48.3 ± 2.3
80	清水浸种 Water soaking	33.3 ± 0.09	35.8 ± 0.09	0.9 ± 0.27	42.9 ± 3.8
	氯甲基吡啶浸种 Nitrapyrin soaking	55.0 ± 0.06	56.7 ± 0.06	1.8 ± 0.28	47.0 ± 4.6
120	清水浸种 Water soaking	36.7 ± 0.08	37.5 ± 0.09	1.3 ± 0.37	39.2 ± 5.5
	氯甲基吡啶浸种 Nitrapyrin soaking	50.0 ± 0.12	53.3 ± 0.08	2.0 ± 0.57	43.1 ± 4.2
盐分 Salt		NS	*	NS	*
氯甲基吡啶 Nitrapyrin		**	**	**	NS
交互 Salt×Nitrapyrin		NS	NS	NS	NS

注: 同列中“*”表示与对照有显著性差异 ($P < 0.05$), “**”表示与对照有极显著性差异 ($P < 0.01$), NS 代表不显著。

Note: Values followed by “*” were significantly different from control at $P < 0.05$, values with a column followed by “**” were significantly different at $P < 0.01$, NS showed no significance.

分别比清水浸种升高 57.2%~282.7%、8.3%~139.3%和 6.4%~15.1%。氯甲基吡啶浸种下抗氧化酶活性的提高有利于清除萌发过程中细胞内

因脂质过氧化产生的毒害,增强棉花种子抵抗逆境能力。



“*”表示与对照有显著差异($P < 0.05$), “**”表示与对照有极显著差异($P < 0.01$), NS代表不显著。
 “*”: significantly different from control at $P < 0.05$, “**”: significantly different at $P < 0.01$, NS showed no significance.

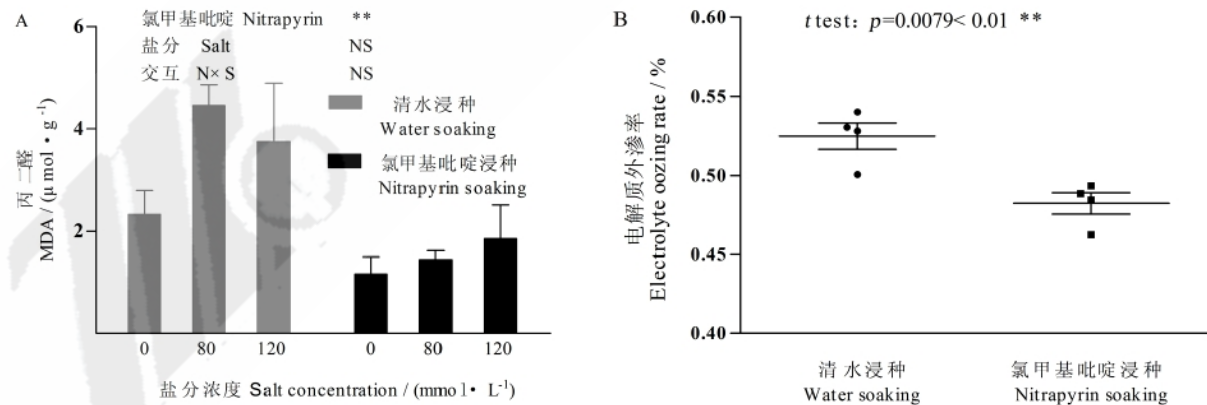
图1 氯甲基吡啶浸种对棉种抗氧化酶系的影响

Fig. 1 Effects of nitrapyrin on the activities of antioxidant enzymes in the cotton

2.3 氯甲基吡啶浸种对棉种萌发过程中丙二醛含量及电解质外渗率的影响

丙二醛(MDA)含量和电解质外渗率二者是反映逆境胁迫对细胞伤害的生理指标。MDA的含量可代表逆境下原生质膜的损伤程度,MDA含量越高,细胞膜受伤害程度越大。电解质外渗率越高,表明膜受伤害膜透性越大,造成细胞内液外渗,其抗逆性能就越低。如图2A所示,盐分胁迫会使萌发棉种的MDA含量升高,而氯甲基

吡啶浸种能显著降低萌发棉种的MDA含量($P < 0.01$),降幅为 49.9%~67.6%。由图2B可以看出,氯甲基吡啶浸种的电解质外渗率比清水浸种下降了 8.1% ($P < 0.01$),表明在盐胁迫下,氯甲基吡啶浸种可显著增强棉种萌发过程细胞膜的完整性,减少细胞内电解质外渗和有害物质的积累,有利于提高棉种萌发过程对盐胁迫的抗性,增强其盐胁迫下的发芽能力。



“*”表示与对照有 $P < 0.05$ 的显著性差异, “**”表示与对照有 $P < 0.01$ 的极显著性差异, NS代表不显著。
 “*”: significantly different at $P < 0.05$, “**”: significantly different at $P < 0.01$, NS showed no significance.

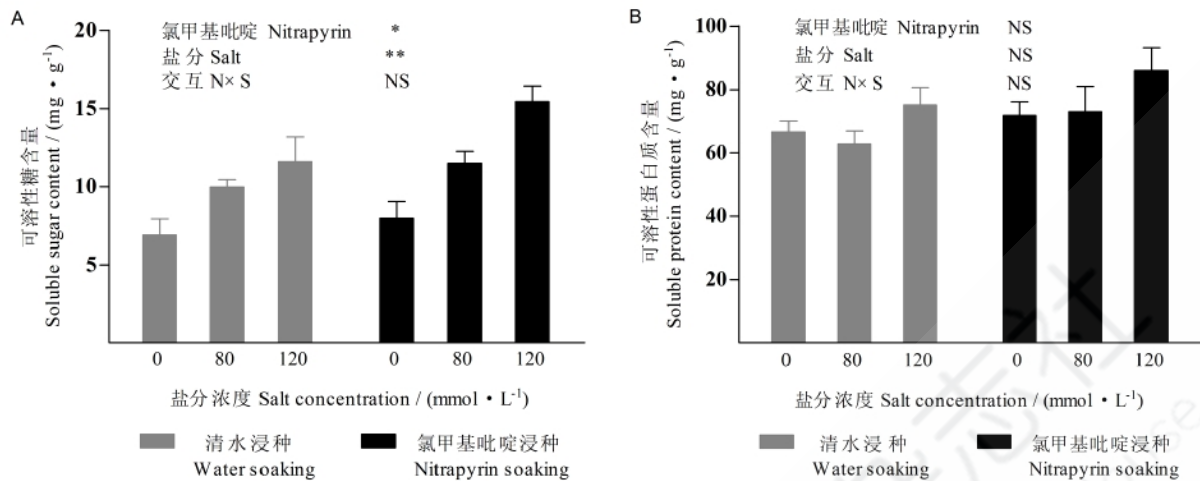
图2 氯甲基吡啶浸种对棉种丙二醛含量及电解质外渗率的影响

Fig. 2 Effects of nitrapyrin on the content of MDA and electrolyte oozing rate in the cotton seed

2.4 氯甲基吡啶浸种对棉种可溶性蛋白与可溶性糖含量的影响

可溶性糖及可溶性蛋白既是细胞体内的渗

透调节物质,也是种子萌发过程中大分子物质分解与生理转化反应的产物。由图3可以看出,当盐分浓度分别为 0、80、120 mmol·L⁻¹ 时,氯甲基



“*”表示与对照有显著差异($P < 0.05$), “**”表示与对照有极显著差异($P < 0.01$), NS 代表不显著。

“*”: significantly different from control at $P < 0.05$, “**”: significantly different at $P < 0.01$, NS showed no significance.

图 3 氯甲基吡啶浸种对棉种可溶性蛋白与可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effects of nitrapyrin soaking on the content of soluble protein and soluble sugar in the cotton seed

吡啶浸种增加了萌发棉种的可溶性糖含量 ($P < 0.05$)以及可溶性蛋白含量,分别比清水浸种提高 15.4%、15.3%、33.4% 和 7.7%、16.1% 和 14.2%。由此表明,氯甲基吡啶浸种能促进棉种萌发过程可溶性有机物的积累,增强了盐分胁迫下的渗透调节能力。

3 讨论

关于提升种子发芽能力和促进种子活力的研究主要集中在物理或者化学措施方面。王敏等^[17]研究表明,通过大气压等离子体处理黄瓜种子可提高种子活力;汤楚宙等^[18]利用静电、磁处理和电磁处理技术明显提高了种子发芽率和种子活力;李朝苏等^[19]研究认为用低浓度铝($\leq 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)浸种可降低荞麦种子细胞膜透性,减少细胞内营养物质的外渗,促进种子的萌发。关于氯甲基吡啶的国内外研究报道多集中在提高作物氮素营养与产量^[8,20]、植物病害与作物品质^[20-22]及温室气体排放等方面^[23]。

近 5 年以来,氯甲基吡啶作为一种高效的硝化抑制剂在新疆滴灌农田得到广泛应用,它对实现旱地作物的增铵营养以及作物增产有明显的效应。刘涛等^[6]研究表明,石灰性土壤中施用氯甲基吡啶可减缓 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 向 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的转化速度,从而实现作物的增铵营养;刘洪亮等^[8]研究称滴灌棉田施用氯甲基吡啶能使单株铃数与铃重均有

所增加,增产幅度为 3.7%~4.3%。在生产应用实践中,氯甲基吡啶配合基肥施用能促进盐渍化农田棉种发芽,表现为发芽率高、出苗快。

在本研究开始前,为筛选氯甲基吡啶浸种的最适浓度,对氯甲基吡啶浸种进行了 $10^{-5} \sim 10^{-1} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围的剂量预试验,结果表明当浓度大于 $10^{-2} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氯甲基吡啶会显著抑制棉种萌发,导致发芽率明显降低,甚至不发芽。通过预试验得出的氯甲基吡啶最适浸种浓度为 $4.1 \times 10^{-3} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Goring 等^[24]研究也表明当氯甲基吡啶剂量超过 $0.025 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,棉花就会遭受毒害,这与本试验结果相似。本研究表明,一定浓度的氯甲基吡啶浸种对棉种的萌发有显著的促进作用,并且通过 $4.1 \times 10^{-3} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯甲基吡啶浸种 24 h,棉种发芽率高,种子活力强,发芽时间大大缩短,试验数据也初步证实了其促进棉种萌发的效果。

参考文献:

- [1] 韩志平,张海霞,高迎,等. 水杨酸对盐胁迫下西瓜种子萌发特性的影响[J]. 山西大同大学学报,2011,27(5):67-69.
HAN Zhi-ping, Zhang Hai-xia, Gao Ying, et al. Effect of salicylic acid on the germination characteristics of watermelon seed under salt stress [J]. Journal of Shanxi Datong University, 2011, 27(5): 67-69.
- [2] 杨建肖,王桂荣,张永生,等. 钾对玉米种子萌发及其生理特性的影响[J]. 华北农学报,2008,23(4):145-148.
YANG Jian-xiao, Wang Gui-rong, Zhang Yong-sheng, et al.

- The effects of potassium on germination and physiological characteristics of maize seed [J]. *Acta Agriculture Boreali-Sinica*, 2008, 23(4): 145-148.
- [3] 汤菊香,高扬帆,陈军,等. GA和Mn²⁺对盐渍土棉花种子发芽影响的研究[J]. *种子*, 2006, 25(8): 7-9.
TANG Ju-xiang, Gao Yang-fan, Chen Jun, et al. Study of effect of GA and Mn²⁺ on the salt tolerance of cotton seed [J]. *Seed*, 2006, 25(8): 7-9.
- [4] 翟乃家,刘蔚霞,乔健. 甜菜碱浸种对盐胁迫下棉花种子发芽及其幼苗生理活性的影响[J]. *山东农业科学*, 2012, 44(5): 45-48.
ZHAI Nai-jia, Liu Wei-xia, Qiao Jian. Effect of seed soaking with different concentrations of betaine on germination and seedling physiological properties of cotton under salt stress [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2012, 44(5): 45-48.
- [5] 刘建凤,崔彦宏,王荣焕. 锰对玉米种子萌发及幼苗生理活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(2): 279-281.
LIU Jian-feng, Cui Yan-hong, Wang Rong-huan. Effects of manganese on maize seed germination and physiological activities of seedlings [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(2): 279-281.
- [6] 刘涛,梁永超,褚贵新,等. 三种硝化抑制剂在石灰性土壤中的应用效果比较[J]. *土壤*, 2011, 43(5): 758-762.
LIU Tao, Liang Yong-chao, Chu Gui-xin, et al. Effect comparison of three different types of nitrification inhibitors (DCD, DMPP and Nitrapyrin) in calcareous soils [J]. *Soils*, 2011, 43(5): 758-762.
- [7] 孙爱文,石元亮,张德生,等. 硝化/脲酶抑制剂在农业中的应用[J]. *土壤通报*, 2004, 35(3): 358-361.
SUN Ai-wen, Shi Yuan-liang, Zhang De-sheng, et al. Application of nitrification-urease inhibitors in agriculture [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2004, 35(3): 358-361.
- [8] 刘洪亮,梁永超,刘涛,等. 新型硝化抑制剂对膜下滴灌棉田抑制效果及棉花产量的影响[J]. *新疆农业科学*, 2010, 47(11): 2200-2204.
LIU Hong-liang, Liang Yong-chao, Liu Tao, et al. The effect of the new nitrification inhibitor on the soil nitrogen transformation and cotton yield under plastic mulch drip irrigation in northern Xinjiang [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2010, 47(11): 2200-2204.
- [9] 黄益宗,冯宗炜,张福珠. 硝化抑制剂硝基吡啶在农业和环境保护中的作用[J]. *土壤与环境*, 2001, 10(4): 323-326.
HUANG Yi-zong, Feng Zong-wei, Zhang Fu-zhu. Application of nitrapyrin in agriculture and environmental protection [J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2001, 10(4): 323-326.
- [10] 杨建肖,杨国航,孙世贤,等. 硫酸锌处理对玉米种子萌发的生理效应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(2): 410-415.
YANG Jian-xiao, Yang Guo-hang, Sun Shi-xian, et al. Physiological effects of zinc sulphate on maize seed germination [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(2): 410-415.
- [11] 张志良. *植物生理学实验指导* [M]. 北京:高等教育出版社, 2003.
ZHANG Zhi-liang. *Guidance on plant physiology experiment* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003.
- [12] 何士敏,张燕,易涵. 晒浸种对豌豆种子萌发的生理生化效应[J]. *种子*, 2012, 31(2): 42-47.
HE Shi-min, Zhang Yan, Yi Han. Effect of soaking seed with selenium on physiological and biochemical characters of *Pisum Sativum* germinating [J]. *Seed*, 2012, 31(2): 42-47.
- [13] 邹琦. *植物生理学实验指导* [M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
ZOU Qi. *Guidance on plant physiology experiment* [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [14] 徐朗莱,叶茂炳. 过氧化物酶活力连续记录测定法[J]. *南京农业大学学报*, 1989, 12(3): 82-83.
XU Lang-lai, Ye Mao-bing. A measurement of peroxidase activity using continuous recording method [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1989, 12(3): 82-83.
- [15] 白宝璋,靳占忠,李存东. *植物生理学实验教程(下)* [M]. 北京:中国农业科技出版社, 2001: 61-62.
BAI Bao-zhang, Jin Zhan-zhong, Li Cun-dong. *Tutorial of plant physiological experiment(next)* [M]. Beijing: China Agricultural Sci-tech Press, 2001: 61-62.
- [16] READ M S. Minimization of variation in the response to different protein of the coomassie blue G dye-binding assay for protein [J]. *Analytical Biochemistry*, 1981, 116: 53-64.
- [17] 王敏,杨思泽,陈青云,等. 大气压等离子体处理对黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(2): 195-200.
WANG Min, Yang Si-ze, Chen Qing-yun, et al. Effects of atmospheric pressure plasma on seed germination and seedling growth of cucumber [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2007, 23(2): 195-200.
- [18] 汤楚宙,张桂花,谢方平,等. 电磁处理对杂交水稻种子发芽特性的影响[J]. *湖南农业大学学报*, 2004, 30(5): 466-468.
TANG Chu-zhou, Zhang Gui-hua, Xie Fang-ping, et al. Effect of electrostatic and magnetic treatment on hybrid rice seed germination performance [J]. *Journal of Hunan Agricultural University*, 2004, 30(5): 466-468.
- [19] 李朝苏,刘鹏,徐根娣,等. 铝浸种对荞麦种子萌发和幼苗生理的影响[J]. *生态学报*, 2006, 26(6): 2042-2047.
LI Chao-su, Liu Peng, Xu Gen-di, et al. Effect of seed soaking with aluminum on seed germination and seedling physiology of buckwheat [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(6): 2042-2047.
- [20] SAHRAW K L, 陈国安. 硝化抑制剂对植物化学组成的影响[J]. *土壤学进展*, 1987, 15(6): 915-924.
SAHRAW K L, Chen Guo-an. Effects of nitrification inhibitors on plant chemical composition [J]. *Soil Science Progress*, 1987, 15(6): 915-924.
- [21] MILLS H A. Effects of nitrogen source, rate, and inhibition of nitrification on growth and nitrate accumulation in some vegetables [D]. Massachusetts: University of Massachusetts, 1975.
- [22] WARREN H L, Huber D M, Nelson D W, et al. Stalk rot incidence and yield of corn as affected by inhibiting nitrification of fall-applied ammonium [J]. *Agron J*, 1975, 67: 655-660.
- [23] BREMNER J M, Blackmer A M. Nitrous oxide emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen [J]. *Science*, 1978, 199: 295-296.
- [24] GORING C A I. Control of nitrification of ammonium fertilizers and urea by 2-chloro-6-(Trichloromethyl)-pyridine [J]. *Soil Science*, 1962, 93: 431-439.