



外源甲醇对油菜种子萌发和幼苗生长的影响

赵 艳^{1,2}, 杨青松³, 刘 蕾¹, 曾智东¹, 孙慧群¹, 陈丽梅^{1*}

(1 昆明理工大学 生命科学与技术学院 生物工程技术研究中心, 昆明 650500; 2 云南农业大学 基础与信息工程学院, 昆明 650201; 3 云南民族大学 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 昆明 650500)

摘 要:以中国南、北 2 个主要栽培品种‘玉油二号’和‘秦油二号’油菜种子为供试材料, 采用溶液培养方法研究了 0~2 000 mmol · L⁻¹ 甲醇溶液处理下, 油菜种子萌发、幼苗生长特征及其相关生理生化指标的变化。结果表明: (1) 10~1 000 mmol · L⁻¹ 甲醇处理的油菜种子萌发指标(发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数)和幼苗生长指标(幼芽及幼根长度、鲜重、根冠比)均比对照显著增加, 而甲醇溶液浓度为 2 000 mmol · L⁻¹ 时油菜种子萌发和幼苗生长受到显著抑制; 两个油菜品种种子萌发和幼苗生长在甲醇溶液处理下均表现为相同的变化趋势, 但存在品种的差异, ‘秦油二号’生长受影响程度低于‘玉油二号’。(2) 随着甲醇溶液浓度的增加, 油菜种子萌发指标和幼苗生长指标表现出先增加后降低的趋势, 并在甲醇溶液浓度为 100 mmol · L⁻¹ 时均达到最大值, 继续高于此浓度后促进作用即减弱以至消失, 甚至产生抑制作用。(3) 随着甲醇处理溶液浓度的增加, 油菜幼苗叶片的叶绿素含量呈先增后降的趋势, 而同期叶片的 MDA 和过氧化氢含量却呈先降后升的相反趋势, 且均在相同的 100 mmol · L⁻¹ 浓度下分别达到最大或者最低值。研究认为, 适宜浓度的甲醇溶液能够促进油菜种子萌发和幼苗生长。

关键词: 油菜; 生理特性; 种子萌发; 幼苗生长

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Effect of Exogenous Methanol on Seed Germination and Seedling Growth of *Brassica napus* L.

ZHAO Yan^{1,2}, YANG Qingsong³, LIU Lei¹, ZENG Zhidong¹, SUN Huiqun¹, CHEN Limei^{1*}

(1 Biotechnology Research Center, Faculty of Life Science and Technology, Chenggong Campus, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2 College of Basic Science and Information Engineering, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3 Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan University of Nationalities, Kunming 650500, China)

Abstract: To determine the effect of different concentration methanol solution on seed germination and seedling growth of *Brassica napus* L., we chose two main varieties ‘Yuyou 2’ and ‘Qinyou 2’ as materials to be cultured by water or 10—2 000 mmol · L⁻¹ methanol solutions. Seed germination, seedling growth properties and its related physiochemical indices were analyzed. The results indicated that: (1) 10—1 000 mmol · L⁻¹ methanol solution obviously enhanced seed germination parameters (including germination rate, germination potential, germination index and vigor index) and seedling growth parameters (including shoots length, roots length, fresh weight and root/shoot ratio) of *B. napus* L. than that of the control, but the these parameters significantly reduced at 2 000 mmol · L⁻¹. The two varieties showed the same trend under methanol solution treatment, but there were also slight differences in the two varieties, i. e. ‘Qinyou 2’ was affected lower than ‘Yuyou 2’. (2) With increasing concentrations of methanol, *B. napus* L. seed

收稿日期: 2014-02-20; 修改稿收到日期: 2014-05-13

基金项目: 国家自然科学基金(31060031, 30970263)

作者简介: 赵 艳(1982—), 女, 在读博士研究生, 主要从事植物代谢基因工程研究。E-mail: zhaoyankm@126.com

* 通信作者: 陈丽梅, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事植物代谢基因工程研究。E-mail: chenlimeikm@126.com

germination index and seedling growth index increased at first, but decreased later. With $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ methanol solution treatment, seed germination parameters and seedling growth parameters of *B. napus* L. reached the highest value. With higher concentration, the promotion was weakened or disappeared, even dampened. (3) With increasing concentrations of methanol, *B. napus* L. seedling leaves chlorophyll content also showed an increasing trend and decreased at late. The MDA and hydrogen peroxide contents at first fell after the raised of the opposite trend in the same period. The results showed that the appropriate concentration of methanol solution could promote seed germination and seedling growth of *B. napus* L..

Key words: *Brassica napus* L.; physiological characteristics; seed germination; seedling growth

在农业生产的各环节中,种子的生长以及贮藏问题影响着种子的活力,因此适当的种子处理方法不仅能够恢复农作物种子活力,对种子所携带的病菌还能有效灭杀,同时可以提高植株苗期病虫害的抵抗能力,还能提高农作物种子的发芽并促进幼苗生长,从而达到出苗一致和提高作物的产量的效果^[1-2]。目前,关于种子处理的方法较多,技术的更新也较快,很多国家把关注的重点已从化学药剂和叶面施用逐渐转移到种子的处理方法和应用技术。经过一些化学试剂如过氧化氢、高锰酸钾、水杨酸等处理种子后,可以有效增加种子的活力,提高农作物的抗逆性,同时对作物的产量构成因素也有很大程度的改善,进而使作物的产量和品质有大幅度提高,这些技术与叶面喷施方法相比较,不仅减少了工作量,也使操作环节易于控制^[2-5]。促进种子萌发的方法有物理方法和化学方法,其中化学方法是目前国内最常用的方法,而应用于浸种的则主要是无机化学试剂和植物生长调节剂^[1],但目前用有机溶剂浸种的报道还比较少。

甲醇能够调控植物基因和蛋白的表达,加快植物的生长。早在 1985 年 Giovanelli 等^[6]就发现通过叶面喷施甲醇能够刺激植物生长,此后许多的研究也表明甲醇在藻类植物^[7]、双子叶植物如甜菜^[8]、大豆^[9]、油菜^[10]、拟南芥、烟草、番茄^[11]和单子叶植物万年青^[12]中也有促进植物生长的效果。同时外源喷施甲醇还能够提高植物的光合效率^[13-15]。但甲醇溶液处理最早是作为加快种子老化的方法^[16],如 30% 甲醇(约 $7.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)是花生种子劣变的临界浓度^[17],而 10%~20% 甲醇(约 $2.4 \sim 4.9 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理的种子还具有 100% 的发芽率,但种子活力已下降^[18],表明不同浓度甲醇溶液处理种子的效果有差异。另外,萝卜种子^[19]和小麦种子^[20]老化的研究采用了 50% 甲醇(约 $12.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液,又表明不同作物老化对甲醇溶液需求是不一样的。这也就意味着甲醇处理种子研究中不同浓度效果、不同作物反应存在差异,而这种差异需要针对具体作

物开展细化研究。

油菜是中国重要的油料作物,国产食用植物油 50% 以上来自菜籽油^[10]。然而中国食用植物油自给率仅占植物油消费总量 40% 左右,对中国的食用油供给安全构成了巨大威胁^[21]。同时,在低温和阴雨条件下新收获的油菜种子,会使种子的活力降低,因此,在农业生产实践中选择有效的种子处理方法来恢复种子活力并增加种子发芽率,从而促进油菜生长和增加产量是有必要的。本实验通过外源甲醇溶液处理油菜种子后,分析种子萌发情况及幼苗生长特性,初步探索不同浓度甲醇对油菜种子萌发及萌发后幼苗生长以及一些生理生化的影响,为探索甲醇处理油菜种子的适宜方法提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

因考虑到油菜品种种植范围和地域分布,本研究分别选择云南省玉溪市农业科学研究所、云南省玉溪市红塔区种子管理站和云南省玉溪市农夫乐种业有限公司等科研机构培育的‘玉油二号’(Yuyou 2)和陕西省杂交油菜研究中心培育的‘秦油二号’(Qinyou 2)为供试品种,藉此研究甲醇处理对南、北方不同品种的影响差异。种子由云南农业大学农学与生物技术学院梁泉老师提供,并选择籽粒饱满、大小均一的种子作为进行实验。

1.2 种子萌发

采用培养皿滤纸法进行种子萌发实验(GB/T 3543.4),种子萌发期间保持培养皿中种子湿润。用 0.5% NaClO 溶液对供试油菜种子消毒 20 min,蒸馏水冲洗干净备用。选取的种子均匀放入铺有 2 层滤纸的直径 9 cm 的培养皿内,每皿 50 粒,分别置于经 0、10、50、100、200、500、1 000 和 2 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇溶液浸润的 2 层滤纸上,每个处理重复 3 次。以 10% 甲醇溶液($2 455 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)为母液配置各处理液。所有处理的种子于人工气候箱中培养,培养温度为 25°C ,光照时间为 12 h,设定光照强

度为 $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。实验过程中适当添加水或相应的溶液保持滤纸湿润。

1.3 萌发指标测定

每天记录发芽种子数量,直到连续 5 d 没有种子萌发视为萌发结束,种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数参考宋松泉等^[22]的方法测定计算:

发芽率 = (终发芽种子数/供试种子总数) $\times 100\%$

发芽势 = (发芽高峰期种子的发芽数/供试种子总数) $\times 100\%$

发芽指数 = $\sum$ (逐日发芽数/发芽天数)

活力指数 = 发芽指数 $\times$ 幼苗鲜重

发芽实验结束后,测量萌发后继续生长 2 周的单株油菜幼苗的幼芽和幼根的长度、幼苗鲜重,计算根冠比(根冠比 = 根系生物量/地上部生物量)。然后取样测定相关生理生化指标。

1.4 幼苗生理生化指标测定

1.4.1 叶绿素含量 叶绿素含量测定采用丙酮乙醇混合液法进行^[23]。将上述持续生长 2 周幼苗叶片称鲜重后,放入 25 mL 丙酮:乙醇提取液(V:V = 1:1)中,在室温黑暗条件下抽提 24 h,测定提取液在 645 nm 和 663 nm 处的吸光度值(A),并按照公式计算叶绿素含量。

叶绿素 a 含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = $(12.7 \times A_{663} - 2.59 \times A_{645}) \times V / (M \times 1\ 000)$

叶绿素 b 含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = $(22.9 \times A_{645} - 4.67 \times A_{663}) \times V / (M \times 1\ 000)$

叶绿素总含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = $(20.3 \times A_{645} + 8.04 \times A_{663}) \times V / (M \times 1\ 000)$

式中,V 为提取液体积,M 为叶片鲜重(g)。

1.4.2 丙二醛和过氧化氢含量 取持续生长 2 周的幼苗叶片,采用硫代巴比妥酸显色法测定丙二醛(MDA)含量^[24],采用 Gay 等^[25]的方法测定过氧化氢含量。

以上每个生理生化指标测定均设定 3 次重复。

1.5 数据统计分析

采用 Excel 2007 对数据进行统计后,用 DPS 7.05 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度甲醇对油菜种子萌发的影响

从种子萌发指标结果(表 1)可以看出,所有浓度甲醇溶液对油菜种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数都有显著影响,且甲醇溶液(10~1 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理均表现为极显著促进效应($P <$

0.01),而甲醇溶液(2 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理则极显著抑制了油菜种子发芽率、发芽势和发芽指数($P < 0.01$),而对活力指数抑制作用未达到显著水平($P > 0.05$);随甲醇溶液浓度增加,各油菜种子萌发指标均呈现出先升高后降低的变化趋势,并均在 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时达到最大值,此时‘玉油二号’和‘秦油二号’油菜种子发芽率分别比相应对照极显著增加了 46.97% 和 40.63%;2 个油菜品种的种子萌发指标随甲醇处理浓度的变化趋势相同,但 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇溶液对‘玉油二号’发芽率的刺激作用(46.97%)稍大于‘秦油二号’(40.63%),而 2 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇溶液处理对‘玉油二号’发芽率的抑制作用(11.93%)稍小于对‘秦油二号’(14.92%),2 个品种发芽势、发芽指数和活力指数的变化趋势与发芽率类似,说明甲醇溶液处理对‘玉油二号’种子萌发的刺激作用大于‘秦油二号’,抑制作用小于‘秦油二号’。以上结果说明,适宜浓度的甲醇处理均能极显著促进 2 个油菜品种种子萌发,并以 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度最佳,过高或者过低浓度甲醇溶液促进作用则减弱,甚至转为抑制作用;不同品种种子萌发对甲醇处理响应存在一定差异,‘玉油二号’种子受到的促进作用更强,抑制作用更弱。

2.2 不同浓度甲醇对油菜幼苗生长的影响

表 2 显示,在本实验处理浓度范围内,不同浓度甲醇溶液对油菜幼苗生长的影响与对种子萌发影响相似。随甲醇溶液浓度的增加,两品种油菜幼芽长、幼根长、鲜重和根冠比均呈现先升高后下降的趋势,并在甲醇溶液浓度为 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值,此时油菜幼苗的鲜重比对照分别显著增加了 112.50% (‘玉油二号’)和 72.73% (‘秦油二号’)。同样,10~1 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇溶液处理均表现为显著促进作用,而 2 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甲醇溶液则抑制了油菜生长,如油菜幼苗鲜重分别比对照减少了 12.50% (‘玉油二号’)和 18.18% (‘秦油二号’)。同时,当 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇溶液处理时,‘玉油二号’油菜幼苗幼芽长和幼根长受到的刺激作用小于‘秦油二号’,对鲜重和根冠比受到的刺激作用大于‘秦油二号’;而 2 000 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇溶液处理时正好相反,‘玉油二号’油菜幼苗幼芽长和幼根长受到的抑制作用大于‘秦油二号’,而鲜重和根冠比受到的抑制作用小于‘秦油二号’。说明适宜浓度甲醇溶液处理均能显著促进两品种油菜幼苗的生长,而甲醇溶液处理对‘玉油二号’的幼苗生长刺激作用大于‘秦油二号’,因为根冠比和鲜重能更准确

反映幼苗生长情况^[26]。

2.3 不同浓度甲醇对油菜幼苗叶绿素含量的影响

不同浓度甲醇溶液对油菜幼苗叶绿素含量的影响与对种子萌发、幼苗生长的影响相似,随着甲醇溶液浓度的增加,两品种油菜幼苗叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量均呈现先升高后下降的趋势,并在

甲醇溶液浓度为 100 mmol·L⁻¹时达到最大值,而最终在浓度为 2 000 mmol·L⁻¹时出现抑制效果(图 1)。在甲醇溶液浓度为 100 mmol·L⁻¹时,‘秦油二号’和‘玉油二号’油菜幼苗叶片叶绿素 a 含量分别比对照显著增加了 76.32%和 72.41%,叶绿素 b 含量分别显著增加了 86.67%和 80.00%,总叶绿

表 1 不同浓度甲醇溶液处理下油菜种子的萌发情况

Table 1 The seed germination of *B. napus* L. under different concentrations of methanol solution($\bar{x}\pm s$)

甲醇浓度 Methanol concentration /(mmol/L)	品种 Variety	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
0	玉油二号 Yuyou 2	64.29±1.05 fE	55.36±0.72 eE	52.19±1.02 fF	4.35±0.12 fF
	秦油二号 Qinyou 2	68.42±1.08 eE	57.38±0.73 fE	55.00±1.85 fE	5.90±0.61 fF
10	玉油二号 Yuyou 2	78.52±0.57 eD	70.58±0.57 dD	68.75±1.07 eE	6.28±0.53 eE
	秦油二号 Qinyou 2	82.48±1.35 dD	74.79±0.94 eD	72.49±1.36 eD	9.03±0.15 eE
50	玉油二号 Yuyou 2	83.52±0.74 dC	75.52±0.73 cC	73.70±1.03 dD	7.70±0.34 eE
	秦油二号 Qinyou 2	86.70±0.88 cC	78.29±1.11 dC	76.35±1.16 dC	10.29±0.25 eE
100	玉油二号 Yuyou 2	94.49±0.65 aA	86.34±1.07 aA	83.44±1.14 aA	14.18±0.19 aA
	秦油二号 Qinyou 2	96.22±0.81 aA	92.41±0.63 aA	90.11±0.91 aA	17.27±0.37 aA
200	玉油二号 Yuyou 2	89.37±1.08 bB	81.64±0.67 bB	77.48±0.57 cC	12.53±0.46 bB
	秦油二号 Qinyou 2	92.38±1.18 bB	84.22±1.11 bB	81.77±0.47 bB	15.10±0.89 bB
500	玉油二号 Yuyou 2	87.27±1.02 cB	81.48±0.59 bB	80.39±1.02 bB	11.05±0.73 cC
	秦油二号 Qinyou 2	91.09±0.50 bB	82.56±0.65 cB	79.44±1.39 cB	12.57±0.31 cC
1 000	玉油二号 Yuyou 2	82.48±1.31 dC	74.55±0.63 cC	72.96±0.93 dD	8.50±0.12 dD
	秦油二号 Qinyou 2	87.48±1.11 cC	77.53±0.83 dC	73.62±0.55 eD	10.18±0.23 dD
2 000	玉油二号 Yuyou 2	56.62±1.32 gF	48.45±0.78 fF	46.19±0.96 gG	3.15±0.55 fF
	秦油二号 Qinyou 2	58.21±0.88 fF	50.58±0.94 gF	48.77±0.21 gF	4.52±0.61 fF

注:同列中不同的小写字母和大写字母分别表示在 0.05 和 0.01 水平上存在显著性差异;下同。
Note:Different small letters and capitals in the same column indicate the significant differences at 0.05 and 0.01 levels,respectively. The same as below.

表 2 不同浓度甲醇处理下油菜幼苗生长的变化

Table 2 The seedling growth in *B. napus* L. under different concentrations of methanol solution($\bar{x}\pm s$)

甲醇浓度 Methanol concentration /(mmol/L)	品种 Variety	幼芽长 Shoot length /cm	幼根长 Root length /cm	鲜重 Fresh weight /(g/seedling)	根冠比 The root- shoot ratio
0	玉油二号 Yuyou 2	4.55±0.06 gG	6.63±0.08 gF	0.08±0.002 5 eFDE	0.14±0.003 3 fG
	秦油二号 Qinyou 2	4.83±0.06 gG	6.95±0.13 dD	0.11±0.008 1 deEF	0.15±0.006 2 fG
10	玉油二号 Yuyou 2	5.51±0.10 fF	7.62±0.10 fE	0.09±0.004 0 deD	0.17±0.005 0 fF
	秦油二号 Qinyou 2	5.74±0.06 fF	8.07±0.53 cC	0.12±0.021 2 cdDE	0.19±0.007 1 fF
50	玉油二号 Yuyou 2	5.89±0.08 eE	7.92±0.06 eD	0.10±0.010 0 cdCD	0.20±0.001 5 eE
	秦油二号 Qinyou 2	6.17±0.12 eE	8.12±0.11 cC	0.13±0.008 1 cCD	0.23±0.008 9 eE
100	玉油二号 Yuyou 2	7.18±0.16 aA	9.12±0.10 aA	0.17±0.008 5 aA	0.42±0.056 0 aA
	秦油二号 Qinyou 2	7.95±0.08 aA	9.92±0.06 aA	0.19±0.006 4 aA	0.43±0.087 0 aA
200	玉油二号 Yuyou 2	6.77±0.07 bB	8.83±0.08 bB	0.16±0.010 1 aA	0.40±0.039 0 bB
	秦油二号 Qinyou 2	7.52±0.17 bB	9.36±0.12 bB	0.18±0.008 5 aAB	0.40±0.035 0 bB
500	玉油二号 Yuyou 2	6.45±0.06 cC	8.45±0.06 cC	0.14±0.012 0 bB	0.35±0.029 0 cC
	秦油二号 Qinyou 2	7.13±0.25 cC	9.07±0.78 bB	0.16±0.008 3 bBC	0.37±0.048 0 cC
1 000	玉油二号 Yuyou 2	6.11±0.10 dD	8.11±0.10 dD	0.12±0.012 7 cBC	0.28±0.027 0 dD
	秦油二号 Qinyou 2	6.59±0.17 dD	8.43±0.12 cC	0.14±0.015 0 cCD	0.28±0.031 0 dD
2 000	玉油二号 Yuyou 2	4.02±0.07 hH	6.05±0.09 hG	0.07±0.005 0 fE	0.10±0.012 0 gG
	秦油二号 Qinyou 2	4.33±0.10 hH	6.44±0.83 eE	0.09±0.007 8 eF	0.13±0.019 0 gG

素含量分别比对照显著增加了 69.57% 和 94.23% (图1)。以上结果说明,采用适当浓度甲醇溶液培

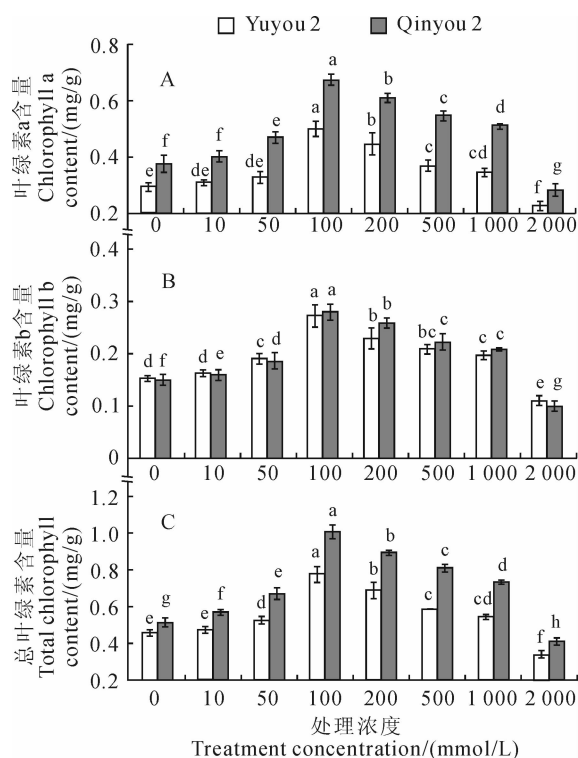


图1 不同浓度甲醇溶液处理下油菜幼苗叶片叶绿素含量的变化

Fig. 1 The changes of chlorophyll content of *B. napus* L. seedling leaves under different concentration of methanol solution

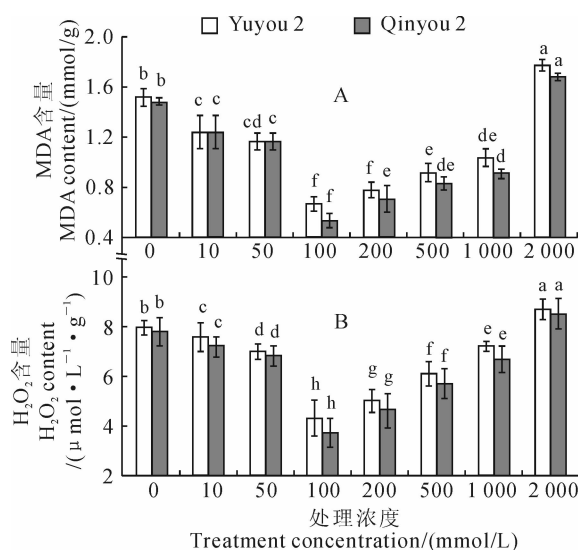


图2 不同浓度甲醇溶液处理下油菜幼苗叶片丙二醛(A)和过氧化氢(B)含量的变化

Fig. 2 The changes of MDA(A) and H_2O_2 (B) content in *B. napus* L. seedling leaves under different concentrations of methanol solution

养油菜幼苗能够有效提高叶片的光合作用潜力。

2.4 不同浓度甲醇对油菜幼苗叶片丙二醛和过氧化氢含量的影响

油菜幼苗叶片的丙二醛和过氧化氢含量的变化趋势与其叶片叶绿素含量的变化趋势相反,即随着甲醇溶液浓度的升高呈现先降低后升高的趋势,并在 $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲醇溶液处理时出现最低值(图2);其中,两个指标的数值在低浓度 ($10\sim 1\,000\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 甲醇溶液处理下均明显低于对照,而甲醇溶液浓度达到 $2\,000\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时均高于对照。以上结果说明,采用适当浓度甲醇溶液培养油菜幼苗能够显著降低叶片内丙二醛和过氧化氢含量的积累。

3 讨论

本研究中种子萌发实验结果表明,在供试浓度范围内,低浓度甲醇溶液 ($10\sim 1\,000\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理的油菜种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均高于对照组,表明低浓度甲醇溶液可以作为油菜种子处理剂;同时低浓度甲醇溶液处理中种子萌发指标均在甲醇溶液浓度为 $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 达到最大值。同样,低浓度的甲醇溶液处理可以改善油菜幼苗素质,以根冠比为典型代表的油菜幼苗生长指标在低浓度的甲醇溶液处理后比对照显著增加,而油菜幼苗的生长指标在高浓度的甲醇溶液处理后与对照相比显著降低。因此,适宜浓度的甲醇溶液既促进了油菜种子的萌发,又改善了油菜幼苗的素质,从而促进油菜幼苗生长。据此我们认为施用甲醇溶液是提高油菜种子发芽率、促进幼苗生长的有效方法。同时,两种不同油菜品种的实验表明,甲醇溶液对不同品种的种子萌发和幼苗素质的影响趋势都是一致的,这更增加了甲醇溶液处理油菜种子的普适性。在本研究中, $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲醇溶液是刺激油菜种子萌发和幼苗生长的阈值,即低于或者高于该浓度水平时,甲醇溶液促进油菜种子萌发和幼苗生长的效应就会减弱而都得不到充分发挥,一旦高于某浓度水平时甚至产生抑制作用。

甲醇溶液促进种子萌发和幼苗生长的总体规律与拟南芥叶片喷施甲醇溶液的效果相似,表现为低浓度甲醇具有刺激生长和促进的作用,而高浓度甲醇对植物有毒性^[13],这种生理效果在藻类、单子叶和双子叶植物中都得到了验证^[7-8,11]。这种促进油菜幼苗生长趋势与油菜种子萌发趋势一致,而二者之间的连接桥梁正是以叶绿素 a 为主的幼苗光合作

用指标。叶绿素 a 是绿色植物进行光合作用的主要色素,幼苗的生长与植物的光合作用及其强度有密切的关系^[27-28]。研究表明,在高温、高光强下叶面喷施外源甲醇能提高多种 C₃ 植物的光合作用^[29],而在拟南芥^[13]、棉花^[14]的研究中表明,这种刺激作用是与叶绿素 a 含量增加,从而改善植物的光合机能,提高其光合速率密切相关。本研究表明,适当浓度的甲醇溶液处理下,叶片叶绿素 a 的含量显著增加,与前人研究结果一致。

另外,适宜浓度的甲醇溶液促使油菜幼苗光合速率提高,可能与甲醇在一定程度上维持了膜系统的稳定性以及体内活性氧的代谢平衡有关。本研究表明,当低浓度甲醇溶液处理油菜幼苗时,叶片内丙二醛和过氧化氢含量的积累明显减少。其中,丙二醛的积累减少,反映出施用适量甲醇可以诱导增加叶片保护酶的活性,有效及时清除多余的活性氧,减少自由基对膜的伤害作用,维持细胞膜的稳定性,延

长叶片的功能期,有利于延缓叶片衰老^[30-31],进而促进了幼苗光合能力和效率。过氧化氢含量降低,有可能使质膜 H⁺-ATP 酶的磷酸化水平及活性提高,增加气孔的开度和气孔导度,从而增加叶片对 CO₂ 的吸收和光合作用效率的提高^[32]。

在本研究中,100 mmol · L⁻¹ 甲醇溶液对‘玉油二号’油菜种子萌发和幼苗生长的刺激作用均大于对‘秦油二号’,而 2 000 mmol · L⁻¹ 甲醇溶液处理对‘玉油二号’的种子萌发和幼苗生长的抑制作用均小于对‘秦油二号’,表明不同的油菜品种的萌发和幼苗生长对甲醇溶液反应的敏感度可能存在差异。另外,从两个品种的种子活力看,种子活力高的品种对甲醇溶液处理不敏感,在外源一氧化氮处理研究中也有类似情况,低活力种子受体硝普钠(SNP)的影响要大于高活力种子,受促进的效应大^[33]。但由于没有种子活力不同的同一品种种子作对比,因此该结果需要进一步验证。

参考文献:

- [1] ZHANG J(张 静),HU L Y(胡立勇). The progress of crops seed treatment[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*(华中农业大学学报),2012,**31**(2):258—264(in Chinese).
- [2] MAO L G(毛连纲),YAN D D(颜冬冬),WU ZH F(吴篆芳),*et al.* Research progress in seed treatment[J]. *China Vegetables*(中国蔬菜),2013,(10):9—15(in Chinese).
- [3] ZHENG Q(郑 群),GE X G(葛晓光),LÜ G H(吕国华),*et al.* Effect of H₂O₂,KH₂PO₄ and inose presoaking at low temperature on bourgeon and vigor of *Cyamopsis tetragonoloba* taubert seeds[J]. *Seed*(种子),2002,6:10—11,36(in Chinese).
- [4] GUO Q L(郭群利),HU J(胡 晋),HONG ZH CH(洪中川). Influence of seed-soaking by potassium permanganate germination rate and seeding rate of hybrid rice seed[J]. *Seed*(种子),2007,**26**(6):87—88(in Chinese).
- [5] WANG X D(王晓多),LU Y ZH(陆远柱),YANG J Y(杨九英). Effects of soaking with salicylic acid on seeds germination and seedlings growth of pea(*Pisum sativum*)[J]. *Seed*(种子),2007,**26**(8):42—44(in Chinese).
- [6] GIOVANELLI J, MUDD S H, DATKO A H. Quantitative analysis of pathways of methionine metabolism and their regulation in *Lemna* [J]. *Plant Physiology*,1985,**78**(3):555—560.
- [7] THEODORIDOU A, DRNEMANN D, KOTZABASIS K. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol [J]. *Bba-Gen Subjects*,2002,**1 573**(2):189—198.
- [8] NADALI I, PAKNEJAD F, MORADI F,*et al.* Effects of methanol on sugar beet(*Beta vulgaris*)[J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2010,**4**(6):398—401.
- [9] LI Y C, GUPTA G, JOSHI J F,*et al.* Effect of methanol on soybean photosynthesis and chlorophyll[J]. *Journal of Plant Nutrition*,1995, **18**(9):1 875—1 880.
- [10] ZHAO Y(赵 艳),TAN H(谭 浩),CHEN L M(陈丽梅). Comparison of the effects of foliar application of methanol and ethanol on the growth and photosynthetic characteristics in *Brassica napus* L. [J]. *Journal of Yangzhou University*(Agric. Life. Sci. Edi.)(扬州大学学报·农业与生命科学版),2013,**34**(3):39—43(in Chinese).
- [11] RAM REZ I, DORTA F, ESPINOZA V,*et al.* Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of *Arabidopsis*, tobacco, and tomato plants[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*,2006,**25**(1):30—44.
- [12] SUN L L(孙利利),ZHAO Y(赵 艳),ZHOU L(周 磊),*et al.* Effects of foliar spray methanol and ethanol on physiological characteristics of *Rohdea japonica*[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报),2013,**33**(3):527—533(in Chinese).
- [13] WANG SH SH(王莎莎),SUN L L(孙利利),XIAO S Q(肖素勤),*et al.* Effects of foliar spraying C1 compounds on physiological characters and expression levels of genes related to C1 metabolism, photosynthesis and stress response of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of*

- Zhejiang University(Agric. Life. Sci. Edi.)(浙江大学学报·农业与生命科学版),2011,**37**(6):631—641(in Chinese).
- [14] SU Y Y(苏媛媛),HE Z L(何宗铃),TI X N(逄晓南). Effects of methanol on glycolate oxidase and photosynthetic rate of cotton[J]. *Journal of Xinjiang Agriculture University*(新疆农业大学学报),2012,**35**(3):178—183(in Chinese).
- [15] HE Z L(何宗铃),BAI Y R(拜彦茹),WANG J(王 瑾),*et al.* Effects of exogenous methanol on rubisco and photosynthetic diurnal variation cotton during flower-bolling stage[J]. *Journal of Xinjiang Agriculture University*(新疆农业大学学报),2013,**36**(3):218—223(in Chinese).
- [16] MUSGRAVE M E,PRIESTLEY D A,LEOPOLD A C,Methanol stress as a test of seed vigor[J]. *Crop Sci.*,1980,**20**(5):626—630.
- [17] FU J R(傅家瑞),LI ZH J(李卓杰),CAI D Y(蔡东燕),*et al.* Ultrastructural studies on radicle cells of peanut seeds aged by methanol[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*(中山大学学报),1986,(4):112—116(in Chinese).
- [18] LI ZH J(李卓杰),BIN J H(宾金华),FU J R(傅家瑞). Effect of methanol stress on oxidase activity in germination peanut seeds[J]. *Seed*(种子),1992,**7**(5):2—5(in Chinese).
- [19] RAO G ZH(饶贵珍),ZHANG X E(张秀恩),WU G Y(吴广宇). Experimental study on methanol and water accelerated aging of radish seeds[J]. *Seed Technology*(种子科技),2000,(1):37—38.
- [20] TANG J X(汤菊香),LI M J(李明军),LI G L(李广领). Studies on the physiological characteristic of wheat in their artificial aging[J]. *Journal of Henan Normal University*(Nat. Sci. Edi.)(河南师范大学学报·自然科学版),2005,**33**(3):164—167(in Chinese).
- [21] SUN Y D(孙涌栋),YAO L F(姚连芳),LI X ZH(李新峥),*et al.* Growth and physiological indexes of cucumber seedlings with Na_2CO_3 stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报),2008,**28**(11):2 251—2 256(in Chinese).
- [22] 宋松泉,程红焱,龙春林,等. 种子生物学研究指南[M]. 北京:科学出版社,2005:57—58;60—62.
- [23] ZHANG X ZH(张宪政). Determination of chlorophyll content in plant-acetone and alcohol mixture method[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*(辽宁农业科学),1986,3:26—28(in Chinese).
- [24] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导(第3版)[M]. 北京:高等教育出版社,2003:122—277.
- [25] GAY C A,GEBICKI J M. Measurement of protein and lipid hydroperoxides in biological systems by the ferric-xylenol orange method[J]. *Analytical Biochemistry*,2003,**315**(1):29—35.
- [26] JIANG J(姜 健),YANG B L(杨宝灵),FENG D Q(封德全). Physiological characteristics analysis of salt-tolerant cell line from Alfalfa callus cultures selected on half natural seawater medium[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*(西北农业学报),2007,**16**(5):49—54(in Chinese).
- [27] SUN Y D(孙涌栋),YAO L F(姚连芳),LI X ZH(李新峥),*et al.* Growth and physiological indexes of cucumber seedlings with Na_2CO_3 stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报),2008,**28**(11):2 251—2 256(in Chinese).
- [28] WANG B S,ZHAO K F,ZOU Q. Advances in mechanism of crop salt tolerance and strategies for raising crop salt tolerance[J]. *Chinese Bulletin of Botany*,1997,14:25—30.
- [29] NONOMURA A M,BENSON A A. The path of carbon in photosynthesis:improve crop yields with methanol[J]. *PNAS*,1992,**89**(20):9 794—9 798.
- [30] HUI ZH L(回振龙),LI Z L(李自龙),LIU W Y(刘文瑜),*et al.* Effects of seed soaking in fulvic acid solution on seed germination and seedling growth in *Medicago sativa* under PEG simulated drought stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报),2013,**33**(8):1 621—1 629(in Chinese).
- [31] SHAN CH J(单长卷),WU X P(吴雪平),LIU Z CH(刘遵春). Effect of water stress on water physiology and three components of yield of winter wheat[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Science*(江苏农业学报),2008,**24**(1):11—16(in Chinese).
- [32] ZHANG X,ZHANG L,DONG F C,*et al.* Hydrogen peroxide is involved in abasic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*[J]. *Plant Physiology*,2001,**126**(4):1 438—1 448.
- [33] YANG Y P(杨亚平),TIAN CH E(田春娥),JIANG X CH(姜孝成),*et al.* Effects of exogenous nitric oxide donor on seed germination and seedling growth of rice[J]. *Seed*,2008,**27**(6):18—22(in Chinese).