

超干处理对胡杨种子抗逆生理生化指标的影响

刘艳萍¹, 李利民¹, 周小明¹, 周登攀¹, 张 丽^{2*}

(1 塔里木大学 植物科学学院/新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室 新疆阿拉尔 843300; 2 沈阳农业大学 生命科技学院, 沈阳 110161)

摘 要:以珍稀濒危植物胡杨种子为材料, 采用硅胶脱水的方法制备不同含水量的种子, 再经不同相对湿度的溶液对种子进行回湿处理, 确定最适含水量及最适回湿方法; 对最适含水量种子进行 50 ℃ 高温老化处理, 经回湿后测定各种酶活性、可溶性糖、可溶性蛋白及丙二醛含量, 考察超干保存的效果, 明确超干保存胡杨种子的可行性。结果表明: (1) 当胡杨种子含水量降至 3.4% 时, 其发芽率开始显著下降, 但经回湿处理后的发芽率和发芽指数可恢复至未经超干处理样品的水平。 (2) 采用 4 种不同的方法对含水量为 3.4% 的种子进行回湿处理, 各回湿方法处理的种子发芽率和发芽指数均显著高于未回湿处理, 并以先用饱和 CaCl_2 回湿 12 h 后再用饱和 NH_4Cl 回湿 12 h 的处理效果最佳。 (3) 在 50 ℃ 高温老化处理过程中, 超干处理(含水量为 3.4%)和未超干处理的胡杨种子过氧化物酶、过氧化氢酶、脱氢酶活性以及可溶性糖的含量均逐渐降低, 而丙二醛的含量则逐渐升高, 但超干处理种子的升降幅度明显较小。研究认为, 胡杨种子超干处理的最适含水量为 3.4%, 超干处理种子较适宜的回湿方法是饱和 CaCl_2 和饱和 NH_4Cl 依次回湿处理各 12 h, 超干处理可使胡杨种子抗氧化酶活性和可溶性糖含量于老化过程中维持在相对较高水平, 膜系统伤害较轻, 从而提高种子的抗老化能力, 说明超干保存胡杨种子具有一定的可行性。

关键词: 胡杨, 种子, 超干保存, 生理生化指标, 抗老化

中图分类号: Q945.6⁺6

文献标志码: A

Effects of Ultra-dry on the Resistance Related Physiological and Biochemical Indexes in Seed of *Populus euphratica*

LIU Yanping¹, LI Limin¹, ZHOU Xiaoming¹, ZHOU Dengpan¹, ZHANG Li^{2*}

(1 College of Plant Science, Tarim University/ Xinjiang Production and Construction Corps Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Alar, Xinjiang 843300, China; 2 College of Life Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: The ultra-dry preservation of the rare and endangered species *Populus euphratica* seeds was carried out to determine the optimal moisture content and rewetting method in this paper. The feasibility of ultra-dry preservation of *P. euphratica* seeds was determined by measurements of contents of various enzymes, soluble sugar and malondialdehyde(MDA). The *P. euphratica* seeds with different water contents were prepared by the method of dehydration of silica gel. The seeds were re-wetted with different solutions, and the optimal wetting method was selected. After treated by aging, the activities of enzymes, soluble sugar, and malondialdehyde in the optimum moisture content of seeds were determined after rewetting to determine the effect of ultra-dry preservation. The results showed that: (1) the seed germination rate

收稿日期: 2016-12-17; 修改稿收到日期: 2017-05-17

基金项目: 国家自然科学基金(31160069)

作者简介: 刘艳萍, 女(1977—), 硕士, 副教授, 主要研究方向为植物种质保存。E-mail: 13785186@qq.com

* 通信作者: 张 丽, 硕士, 讲师, 主要研究方向为植物抗逆生理。E-mail: lypzky@163.com

decreased with the water content decreased to 3.4%. The seed germination rate and germination potential of *P. euphratica* seeds could be restored to the samples without ultra-dry treatment after re-wetting. The optimum moisture content was determined as 3.4%. (2) After comparison of four different methods, the results showed that re-wetting with saturated NH_4Cl for 12 h after re-wetting with saturated CaCl_2 was a better method of re-wetting. (3) The aging results showed that the suitable ultra-dry treatment could increase the activities of peroxidase, catalase, dehydrogenase and the content of soluble sugar, and decrease the content of MDA in the seeds with 3.4% moisture at 50 °C. Therefore, ultra-dry preservation of *P. euphratica* seeds has a certain feasibility for enhancing the anti-aging ability of the seeds.

Key words: *Populus euphratica*; seed; ultra-dry preservation; physiological and biochemical indexes; anti-aging ability

胡杨(*Populus euphratica*)是国家三级保护植物,耐干旱盐碱,具有防风固沙保持水土的作用^[1]。但是近几十年来,由于大面积毁林开荒,塔里木河的水资源日益减少,地下水位降低,生物多样性不断减少,胡杨种群日益衰败,属衰退型种群^[2-4]。因此,对胡杨种质资源进行保存势在必行。胡杨种子成熟后,在高温高湿状态下 7 d 即丧失萌发能力,自然状态下 20 d 左右其萌发能力也将丧失。目前,对胡杨种子保存的研究较少,杨新辉等^[5]采用密封低温(−15 °C 以下)对胡杨种子贮藏 300 d 后的发芽率也只有 50% 左右;杨雪芹^[6]将胡杨种子在装有 CaCl_2 的密闭容器中冷藏,保存 300 d 后有较好的发芽率。但迄今对胡杨种子进行长期保存的研究尚未见报道。

种子超干保存是指借助干燥剂或者是物理的方法,将种子含水量降至 5% 以下,在常温下即可低成本延长种子的贮藏寿命,是一种经济有效的保存植物种质资源的方法^[7-12]。种子超干保存的研究,主要包括确定种子的临界含水量、种子回湿、超干种子抗老化能力及各种抗性相关生理指标的测定等方面^[13-23]。目前对胡杨种子超干保存的研究鲜见报道,本研究先通过室温干燥脱水确定胡杨种子超干的临界含水量,再筛选确定适合胡杨种子的最适回湿方法,同时通过对人工老化后种子各种酶活性及生理指标的测定确定超干过程中影响种子活力的关键因素,为胡杨种子超干保存提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料采集

实验所需种子于 2012 年采于新疆农一师阿拉尔人工胡杨林,初始含水量为 6.5%,发芽率为 66.0%。采后储存于 4 °C 冰箱中备用。

1.2 种子含水量测定

根据 International Rules for Seed Testing

2016^[24]方法,取 1.5 g 种子于 121 °C 烘干 17 h,冷却至室温后称取干重,计算种子含水量。

$$\text{种子含水量}(\%) = (\text{鲜重} - \text{干重}) / \text{鲜重} \times 100\%$$

1.3 种子的超干处理及保存

将种子与硅胶按照 1 : 10 比例置于干燥器中,每天定时更换硅胶称重,获得不同含水量的种子。超干处理后的种子置于双层铝箔袋中,抽真空保存。其脱水速率如图 1 所示。

1.4 种子发芽率和发芽指数的测定

将 100 粒浸种后的种子经 70% 乙醇消毒冲洗后置于铺有 2 层湿润滤纸床的培养皿中发芽。发芽条件为 28 °C、12 h 光/12 h 暗。每天补充水分,并记录发芽情况,最后计算发芽率和发芽指数。

$$\text{发芽率} = \text{发芽种子数} / \text{种子总数} \times 100\%$$

发芽指数 $(GI) = \sum(Gt/Dt)$, 其中的 Gt 为 t 日后的发芽数, Dt 为发芽日数。

1.5 超干种子回湿处理

本实验共采用 4 种回湿处理方法,最终筛选出适合胡杨种子的最适回湿方法。(1)将超干种子室内放置 24 h(室内相对空气湿度为 30%, RW_1);(2)将超干种子室内放置 12 h,再转入底部盛有水的密闭容器中放置 12 h(饱和水蒸气相对湿度 100%, RW_2);

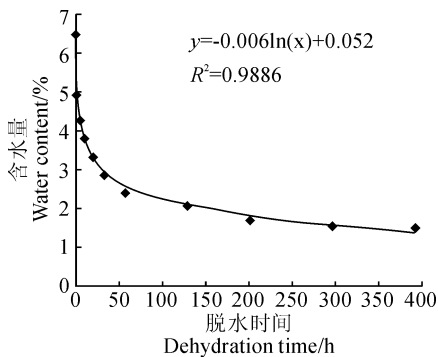


图 1 胡杨种子在室温下的脱水速率
Fig. 1 Dehydration rate of *Populus euphratica* seeds at room temperature

(3)将超干种子在底部盛有饱和 CaCl_2 溶液密闭容器中放置 24 h(饱和 CaCl_2 相对湿度 35%, RW_3);
(4)将超干种子在盛有饱和 CaCl_2 和饱和 NH_4Cl 溶液的密闭容器中各放置 12 h(饱和 CaCl_2 相对湿度 35%,饱和 NH_4Cl 的相对湿度为 70%, RW_4)。

1.6 种子人工加速老化处理及相关指标测定

将超干处理后含水量为 3.4%的种子放置在 50℃烘箱中分别老化 1、2、3、4、5、6、7 d。然后测定老化后种子的相关生理生化指标。

1.6.1 脱氢酶(ADH)活性 采用 TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)法测定 ADH 活性。(1)TTC 标准曲线的制作:配制 50、100、200、300、400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 等一系列不同浓度的 TTC 溶液,各取 5 mL 放入刻度试管中分别加入 5 mL 乙酸乙酯和 2 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 粉末,充分震荡后产生红色的 TPF,转移到乙酸乙酯层。待有色液层分离后补充 5 mL 乙酸乙酯振荡后静置分层,取上层乙酸乙酯液,以空白调零测定在 485 nm 处的吸光度值。以 TTC 浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。回归方程为: $Y=0.000\ 08X+1.78(r=0.999)$ 。(2)ADH 活性测定:取 0.5 g 胡杨种子(重复 3 次),加 5 mL 磷酸缓冲液和 5 mL 4 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TTC 溶液,于 37℃暗处染色 3 h 后,加入 1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2SO_4 2 mL 摇匀后倾出 TTC 溶液,用蒸馏水冲洗 2~3 次,滤纸吸干,用适量乙酸乙酯研磨并定容至 10 mL。4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min,取上层浸提液于 485 nm 下比色,测定吸光度值(OD_{485})。重复 3 次。按照相关公式计算种子 ADH 活性。

1.6.2 丙二醛(MDA)含量 采用硫代巴比妥酸法测定种子丙二醛含量。取 0.5 g 胡杨种子(重复 3 次),加入适量 10% 三氯乙酸研磨并定容至 10 mL,4000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 冷冻离心 10 min,取上清液 2 mL,加 2 mL 0.6% 硫代巴比妥酸,混匀后在沸水浴保持 15 min,用冰水迅速冷却至室温,混合物于 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 冷冻离心 10 min,测在 532 nm 和 450 nm 处的 OD 值,对照管以 2 mL 水代替提取液。按照相关公式计算种子丙二醛(MDA)含量。

1.6.3 过氧化物酶(POD)活性 采用愈创木酚法测定种子 POD 活性。称取种子 0.5 g,(重复 3 次),加蒸馏水冰浴研磨至匀浆状态,定容至 25 mL,取 10 mL 至离心管中在 4℃下 4 000 g 离心 3 min 后,取上清液即粗酶液,保存备用。取 0.1 mL 粗酶液,加入 0.9 mL 水稀释,再加入 1 mL pH 5.0 的 HAc 缓冲溶液、1 mL 0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 愈创木酚溶液、1

mL 0.08% H_2O_2 ,在室温下反应 5 min 后加入 1 mL 5% H_2SO_4 终止反应,测定在 630 nm 处的 OD_{630} 值。以 0.1 mL 水代替酶液作为对照。按照相关公式计算种子 POD 活性。

1.6.4 可溶性糖含量 采用蒽酮比色法测定种子可溶性糖含量。(1)可溶性糖标准曲线制作:配制 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准蔗糖溶液,在试管中分别精确移取蔗糖标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,加蒸馏水至 1 mL,配制成浓度为 0、20、40、60、80、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的蔗糖标准溶液。然后在各支试管中分别加入 2.5 mL 0.2% 蒽酮溶液摇匀待试管降至室温,测在 630 nm 处的吸光度值。以蔗糖标准溶液浓度为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $Y=0.013X+0.019(r=0.998)$ 。(2)可溶性糖含量测定:称取种子 0.5 g,(重复 3 次),加蒸馏水冰浴研磨至匀浆状态,定容至 25 mL,取 10 mL 至离心管中在 4℃下 4 000 g 离心 3 min 后,取上清液即为粗酶液,备用。取 0.1 mL 粗酶液,加 0.9 mL 水,再加入 2.5 mL 0.2% 蒽酮溶液摇匀,待试管降至室温测定在 630 nm 处的 OD 值,对照管以 0.1 mL 水代替酶液。按照相关公式计算种子可溶性糖含量。

1.6.5 过氧化氢酶(CAT)活性 采用高锰酸钾滴定法测定 CAT 活性。称取种子 0.5 g,加蒸馏水冰浴研磨至匀浆状态,定容至 25 mL,取 10 mL 至离心管中在 4℃下 4 000 g 离心 3 min 后,取上清液即酶液备用。取 2.5 mL 酶液加入 1% H_2O_2 5 mL 室温反应 5 min,加入 5 mL 10% H_2SO_4 终止反应,用 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KMnO_4 溶液滴定。对照用 2.5 mL 水代替酶液。按照相关公式计算种子过氧化氢酶 CAT 活性。

1.7 数据分析

实验数据统计分析采用 Excel 表格和统计软件 SAS。本实验中数据均表示为 3 次实验结果的平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 超干处理对胡杨种子活力的影响

从表 1 可以看出,超干胡杨种子含水量由 6.5% 降至 1.5% 时,未经回湿处理的种子发芽率由 66.7% 降至 29%,且在含水量低于 3.4% 以后降幅就达到显著水平;而其种子发芽指数由 43.7% 降至 17.3%,各处理降幅均达到显著水平。经回湿处理后,超干种子的发芽率和发芽指数均有提升,两指标

表 1 不同含水量超干种子的活力变化

Table 1 The vigor change of ultra-dry seeds with different water contents

超干处理时间 Ultra-dry time/d	种子含水量 Water content /%	发芽率 Germination rate/%		发芽指数 Germination index	
		直接发芽 Control	回湿处理 Rewetting	直接发芽 Control	回湿处理 Rewetting
0(CK)	6.5	66.7±1.7aA	66.0±4.1aA	43.7±1.6aA	42.9±2.8aA
1	4.9	62.7±1.2aAB	64.3±3.8aA	36.2±0.7aB	40.0±2.3aA
3	4.0	60.0±3.7aAB	64.0±3.6aA	35.8±2.6aB	35.7±2.1aB
4	3.4	58.0±2.2bAB	63.7±0.5aA	32.4±0.6bB	35.8±0.5aB
5	2.8	55.0±2.2bB	58.3±0.9aA	34.6±0.8aB	34.4±1.6aB
7	2.0	42.3±0.9bC	48.7±1.7aB	23.7±1.2aC	27.4±2.0aC
9	1.5	29.0±5.4bD	37.3±1.2aC	17.3±2.8bD	22.6±1.1aD

注:种子采用室内回湿 24 h 方法。同列不同大写字母表示各含水量种子间在 0.05 水平存在显著性差异,而同行不同小写字母表示回湿处理与对照之间在 0.05 水平存在显著性差异

Note: The seeds were re-wetted for 24 h indoor. Different capital letters within the same column indicate significant difference among seeds with different water contents at 0.05 level, while different normal letters in the same row indicate significant difference between control and re-wetting treatment at 0.05 level

分别在种子含水量低于 2.0%和 4.9%以后才比相应对照显著降低($P<0.05$)。例如,经回湿处理后,含水量为 3.4%的种子发芽率由 58.0%可提高至 63.7%,发芽指数由 32.4%可提高至 35.0%,且与未经处理的对照种子相比差异较小。因此,综合考虑种子萌发安全性和萌发率,可以确定胡杨种子超干保存的临界含水量为 3.4%,而且种子萌发前进行回湿处理也是必要的。

2.2 不同回湿方法对超干胡杨种子活力指数的影响

胡杨种子含水量为 3.4%时,经不同回湿方法处理后,其种子的发芽率和发芽指数表现如表 2 所示。与对照相比,各回湿方法处理种子的发芽率和发芽指数均大幅提高,且大多数达到显著水平。其中,先饱和 CaCl_2 回湿 12 h,再经饱和 NH_4Cl 回湿 12 h 后(RW_4),胡杨种子的发芽率由 55.7%提高至 67.3%,发芽指数由 32.6 提高至 42.6;而经饱和水蒸气回湿 24 h(RW_1)后,种子发芽率和发芽指数分别提高为 62.3%和 36.8,在几种回湿方法中增幅最低。可见,经超干处理的胡杨种子,萌发前进行回湿处理有利于提高其发芽率,且以先饱和 CaCl_2 回湿 12 h 再饱和 NH_4Cl 回湿 12 h 处理效果最好。

2.3 超干处理对种子人工老化过程中生理生化指标的影响

2.3.1 脱氢酶活性 由图 2,A 可知,在相同条件下老化 7 d,未超干处理的胡杨种子的脱氢酶活力从 17.72 $\text{mgTPF} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降至 3.21 $\text{mgTPF} \cdot \text{L}^{-1}$,降幅达到 81.88%;而超干处理的胡杨种子的脱氢酶

表 2 不同回湿方法下超干胡杨种子发芽率及发芽指数的变化

Table 2 The germination rate and germination index of ultra-dry seeds with different rewetting methods

回湿方法 Rewetting method	发芽率 Germination rate/%	发芽指数 Germination index
CK	55.7±2.6 C	32.6±2.0 B
RW_1	62.3±3.9 B	36.8±1.7 AB
RW_2	66.7±3.4 A	41.6±1.6 A
RW_3	64.3±1.2 B	39.0±0.8 A
RW_4	67.3±3.4 A	42.6±2.0 A

注:CK. 直接发芽(对照); RW_1 . 饱和水蒸气回湿 24 h; RW_2 . 饱和 CaCl_2 回湿 24 h; RW_3 . 室内回湿 24 h; RW_4 . 饱和 CaCl_2 12 h+饱和 NH_4Cl 回湿 12 h;种子含水量为 3.4%。同列不同大写字母表示各回湿方法间在 0.05 水平存在显著性差异

Note: CK. Direct germination(Control); RW_1 . Saturated water vapor rewetted for 24 h; RW_2 . Saturated CaCl_2 rewetted for 24 h; RW_3 . Rewetted indoor for 24 h; RW_4 . Saturated CaCl_2 rewetted for 12 h and saturated NH_4Cl rewetted for 12 h. The seed water content is 3.4%. Different capital letters within the same column indicate significant difference among rewetting methods at 0.05 level

活力从 12.08 $\text{mgTPF} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降至 7.45 $\text{mgTPF} \cdot \text{L}^{-1}$,降幅为 38.33%。可见,超干处理可以明显降低胡杨种子脱氢酶活性,但超干处理种子脱氢酶的活性在相同老化条件下下降速度较慢、幅度较小,这与超干处理胡杨种子发芽率和发芽指数的变化趋势相一致。说明超干处理可以保持脱氢酶的活性,使种子具有较高的抗氧化能力。

2.3.2 过氧化物酶活性 随着老化时间的延长,未超干和超干种子的 POD 活性均呈逐渐下降的趋势,

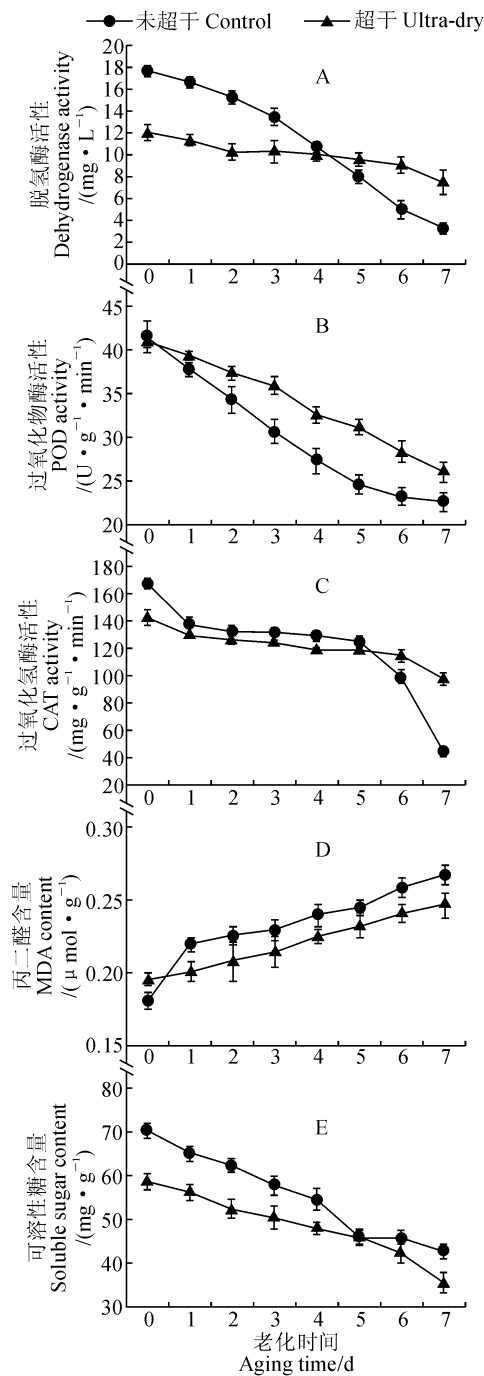


图2 超干种子(含水量3.4%)抗性相关生理生化指标随老化时间的变化

Fig. 2 Changes of physiological and biochemical indexes related to resistance of ultra-dry seeds (water content 3.4%) with aging time

未超干的胡杨种子 POD 活性从 41.5 U · g⁻¹ · min⁻¹ 下降至 22.6 U · g⁻¹ · min⁻¹, 而超干的种子则从 40.9 U · g⁻¹ · min⁻¹ 下降至 26.0 U · g⁻¹ · min⁻¹, 两类种子降幅分别为 45.54% 和 36.43%; 而且在整个老化过程中, 超干种子 POD 活性始终高于同期未经超干种子(图 2, B)。即超干处理胡杨种

子 POD 活性在老化过程中下降速度明显比未经超干种子缓慢, 说明超干处理能明显减缓种子过氧化物酶活性在人工加速老化时的下降幅度。

2.3.3 过氧化氢酶(CAT)活性 CAT 是植物体内与抗性相关的关键酶类, 可以增加种子的抗性, 还可以保护生物膜和促进种子代谢。图 2, C 显示, 未超干和超干种子的 CAT 活性均随老化时间的延长而逐渐下降, 但超干种子比未超干种子的下降趋势更缓, 且整个老化过程中超干种子 CAT 活性始终高于同期未经超干种子。其中, 老化处理 7 d 后, 未超干种子 CAT 活性从 168.2 mg · g⁻¹ · min⁻¹ 下降至 44.3 mg · g⁻¹ · min⁻¹, 超干种子从 143.4 mg · g⁻¹ · min⁻¹ 下降至 98 mg · g⁻¹ · min⁻¹, 降幅分别为 73.66% 和 31.66%, 尤其是未超干种子在老化处理 4 d 后出现大幅快速下降趋势。以上研究结果表明超干处理可以有效保持胡杨种子过氧化氢酶的活性, 从而提高种子耐老化的能力。

2.3.4 丙二醛含量 未超干与超干胡杨种子中丙二醛(MDA)含量均随老化时间的延长而增加, 但超干种子在老化过程中始终低于同期未超干种子(图 2, D)。其中, 未超干种子的 MDA 含量经 40 °C 老化处理 7 d 后由 0.181 μmol · g⁻¹ 升到 0.268 μmol · g⁻¹, 而相应超干种子则由 0.190 μmol · g⁻¹ 升到 0.247 μmol · g⁻¹, 升幅分别为 48.07% 和 30.0%。即超干胡杨种子的 MDA 含量明显低于未超干对照种子, 且老化处理过程中升幅较小, 表明超干处理的胡杨种子抗老化能力更强。

2.3.5 可溶性糖含量 从图 2, E 可知, 在人工加速老化处理过程中, 超干前后胡杨种子的可溶性糖含量也表现出逐渐下降趋势, 但超干种子比未超干种子的下降趋势更缓, 与抗氧化酶活性的变化趋势相似。其中, 未超干胡杨种子可溶性糖含量从 70.52 mg · g⁻¹ 下降至 35.36 mg · g⁻¹, 同期超干种子则从 58.80 mg · g⁻¹ 下降至 42.54 mg · g⁻¹, 降幅分别为 50.14% 和 27.65%。以上结果表明, 超干处理使胡杨种子的可溶性糖含量在老化过程中保持相对稳定, 从而有效维持了种子活力, 同时说明种子可溶性糖含量与种子活力呈正相关。

3 讨论

种子超干保存的最适含水量与种子的成分密切相关, 不同类型的种子最适含水量差别较大。已有的研究表明, 油脂类种子的含水量安全下限比较低(一般在 1%~2%), 淀粉类种子的含水量安全

下限一般在 4%~5%，而蛋白质类种子的含水量安全下限一般在 3%左右，也有蛋白质较高的豌豆、绿豆、豇豆的最适含水量为 6%^[17]。胡杨种子中粗蛋白质含量为 377~436 g·kg⁻¹，比脂类和淀粉类种子的蛋白含量高许多^[25]，可以将胡杨种子归为蛋白质类种子，而且本研究中胡杨种子超干保存的最适含水量约为 3.4%，这与其他蛋白质类种子较接近。

回湿处理目的主要是为了避免种子萌发吸涨过程中受到伤害，使细胞膜得到修复^[15]。已有的研究表明，超干种子在回湿的过程中，经过不同相对湿度的饱和盐溶液进行梯度回湿有利于种子膜体系的修补^[7,10,15]。胡杨种子颗粒较小，回湿盐溶液的相对湿度对种子影响较大。在本研究中，当胡杨种子于饱和水蒸汽中回湿时，种子会因为相对湿度较大而对种子产生伤害；当种子在饱和 CaCl₂ 先回湿 12 h 后，再经饱和 NH₄Cl 回湿 12 h，使胡杨种子逐步吸水，种子膜体系得到有效修复，避免了吸涨损伤。所以，超干种子回湿过程中逐级回湿的方法可以减少吸涨对种子的损伤。对于颗粒较小的种子更应注意回湿方法，避免回湿过快对种子造成伤害。本实验结果表明，胡杨种子超干保存后萌发前进行回湿处理是必要的，其较适合的回湿方法是饱和 CaCl₂ 溶液回湿 12 h 后再经饱和 NH₄Cl 溶液回湿 12 h。

种子劣变的主要原因是脂质过氧化作用，脂质过氧化过程中积累自由基丙二醛等产物对种子产生毒害作用。已有研究表明，芸薹属植物及黄瓜种子进行超干处理再经老化处理后，种子的脱氢酶、过氧

化物酶活性均保持在较高水平，而丙二醛等有害物质含量明显低于对照^[11,13,16,23]。本研究结果也显示超干处理可以保持胡杨种子的脱氢酶和抗氧化酶活性处于较高水平，有效降低丙二醛的产生量，从而表明超干处理可以提高胡杨种子的抗老化能力。同时，可溶性糖在种子活力保持中具有重要的作用。种子吸水萌发后，种子内部的大分子物质开始降解，种子内的可溶性糖含量会增加；种子老化后，相关酶活性受到影响，种子内可溶性糖的含量也会降低^[11]。汪晓峰等研究表明，玉米超干种子和对照种子内的可溶性糖含量均随着种子的萌发而增高，而老化两个月的 10%含水量的种子中可溶性糖含量则较低^[20]。本研究结果也证明胡杨种子的活力与其可溶性糖的含量呈正相关。

综上所述，胡杨种子超干处理的临界含水量为 3.4%；饱和 CaCl₂ 回湿 24 h 再经饱和 NH₄Cl 溶液回湿 12 h 可以明显提高超干种子的发芽率及发芽指数，是超干胡杨种子比较适宜的回湿方法；在高温老化过程中，适宜超干和未超干胡杨种子脱氢酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、可溶性糖含量均随老化时间延长而下降，而丙二醛含量则逐渐升高，但适宜超干处理能使胡杨种子脱氢酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性保持在较高水平，减缓可溶性糖含量降低幅度，明显减少种子丙二醛的生成，从而有效维持种子活力。因此，采用超干保存技术保存胡杨种子具有一定的可行性。

参考文献：

[1] 魏庆莒, 胡杨[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990: 1-2.

[2] 韩 路, 王家强, 王海珍, 等. 塔里木河上游胡杨种群结构与动态[J]. 生态学报, 2014, **34**(16): 4 640-4 651.

HAN L, WANG J Q, WANG H Z, *et al.* The population structure and dynamics of *Populus euphratica* at the upper reaches of the Tarim River[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(16): 4 640-4 651.

[3] 胡春宏. 塔里木河干流河道演变与整治[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 5-6.

[4] 于 军, 王海珍, 陈加利, 等. 塔里木河流域荒漠河岸林胡杨群落的空间格局研究[J]. 中国沙漠, 2011, **31**(4): 913-918.

YU J, WANG H Z, CHEN J L, *et al.* Spatial pattern of *Populus euphratica* community of desert riparian forest in Tarim River Basin[J]. *Journal of Desert Research*, 2011, **31**(4): 913-918.

[5] 杨新辉. 胡杨种子的采集与贮藏[J]. 防护林科技, 2005, **67**

(4): 83.

YANG X H. Seed collection and storage of *Populus euphratica*[J]. *Protection Forest Science and Technology*, 2005, **67**(4): 83.

[6] 杨雪芹. 胡杨种子冷藏及播种技术[J]. 内蒙古林业科技, 2006, **32**(3): 45-46.

YANG X Q. The deep freeze and sowing seeds technology of *Populus euphratica* Oliv[J]. *Journal of Inner Mongolia Forestry Science & Technology*, 2006, **32**(3): 45-46.

[7] 郑光华. 种子超干贮藏概述. 种子生理研究(M). 北京: 科学出版社, 2004: 78.

[8] ZHENG G H, JING X M, TAO J L. Ultra-dry seed storage cuts cost of gene bank[J]. *Nature*, 1998, 393: 223-224.

[9] ELLIS RH, HONG T D. Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity-moisture content relationships in hermetic storage[J]. *Annals of Botany*, 2006, 97: 785-791.

[10] 程红焱. 种子超干贮藏技术应用面临的问题和研究方向[J]. 云南植物研究, 2006, **28**(1): 59-68.
CHENG H Y. Challenges on the application of seed ultra-dry storage in seed banks[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2006, **28**(1): 59-68.

[11] 程红焱, 宋松泉, 朱 诚, 等. 超干种子耐贮藏性的细胞学及生理生化基础[J]. 云南植物研究, 2005, **27**(1): 11-18.
CHENG H Y, SONG S Q, ZHU C, *et al.* Cytological, physiological and biochemical basis of storability of ultra-dry seeds[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2005, **27**(1): 11-18.

[12] MENG S C, LI X Q, MA L P, *et al.* Studies on ultra-dry storage and genetic stability of vegetable seeds[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2011, **12**(12): 1 853-1 856.

[13] 朱 诚. 种子种质超干保存及其耐干性的生理生化基础[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.

[14] 黄振英, 张新时, 郑光华, 等. 超干贮藏提高梭梭种子的耐贮藏性[J]. 植物学报, 2002, **44**(2): 239-241.
HUANG Z Y, ZHANG X S, ZHENG G H, *et al.* Increased storability of *Haloxyylon ammodendron* seeds in ultra-drying storage[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, **44**(2): 239-241.

[15] 邹冬梅. 柱花草超干燥种子预先回湿方法研究[J]. 种子, 2004, **23**(8): 16-18.
ZOU D M. Study on the methods of pre-humidification of ultra-dry seeds of *Stylosanthes*[J]. *Seed*, 2004, **23**(8): 16-18.

[16] 霍平慧, 李剑峰, 师尚礼, 等. 种子超干贮藏对紫花苜蓿前期生长和生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2014, **32**(1), 171-176.
HUO P H, LI J F, SHI S L, *et al.* Effects of seed ultra-drying storage on growth and physiological characteristics of *Medicago sativa* seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2014, **32**(1), 171-176.

[17] 汪晓峰, 景新明, 郑光华. 含水量对种子贮藏寿命的影响[J]. 植物学报, 2001, **43**(6): 551-557.
WANG X F, JING X M, ZHENG G H. Effect of seed moisture content on seed storage longevity[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2001, **43**(6): 551-557.

[18] 汪晓峰, 景新明, 林 坚, 等. 超干种子的膜功能与糖组分的研究[J]. 植物学报, 2003, **45**(1): 23-31.
WANG X F, JING X M, LIN J, *et al.* Studies on membrane function and sugar components of ultra-dried seeds[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, **45**(1): 23-31.

[19] 任晓米, 朱 诚, 曾广文. 与种子耐脱水有关的基础物质研究进展[J]. 植物学通报, 2001, **18**(2): 183-189.
REN X M, ZHU C, ZENG G W. Current research of basic substances related to desiccation tolerance in seeds[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2001, **18**(2): 183-189.

[20] 孔德娟, 郝丽珍, 张凤兰, 等. 沙芥种子发育过程中的脱水耐性[J]. 植物生理学报, 2014, **50**(3): 324-330.
KONG D J, HAO L Z, ZHANG F L, *et al.* Desiccation tolerance of *Pugionium cornutum* seeds during the development[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, **50**(3): 324-330.

[21] 邹冬梅, 郭素霞, 潘永波, 等. 柱花草种子超干贮藏的效果及其遗传稳定性[J]. 农业工程学报, 2015, **31**(增刊 1): 361-366.
ZOU D M, GUO S X, PAN Y B, *et al.* Effect of ultra-dry storage on *Stylosanthes* seed and its genetic stability[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, **31**(supp. 1): 361-366.

[22] CASTELLIÓN M, MATIACEVICH S, BUERA P, *et al.* Protein deterioration and longevity of quinoa seeds during long-term storage[J]. *Food Chemistry*, 2010, 121: 952-958.

[23] 徐 炜, 李晓芳, 陈志宏, 等. 常温下超干保存对披碱草种子生理生化特性的影响[J]. 草地学报, 2010, **18**(3): 399-404.
XU W, LI X F, CHEN Z H, *et al.* Effects of ultra-dry storage on physiological and biochemical characteristics of *Elymus* seed at room temperature[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, **18**(3): 399-404.

[24] ISTA. International Rules for Seed Testing (2016) [S]. 2016, ISTA on line.

[25] 周正立, 于 军, 李志军, 等. 胡杨、灰叶胡杨种子营养化学成分的研究[J]. 西北植物学报, 2003, **23**(6): 987-991.
ZHOU Z L, YU J, LI Z J, *et al.* A study on the chemical composition of *Populus euphratica* and *Populus pruinosa* seeds[J]. *Acta Bot. Boreal-Occident. Sin.* 2003, **23**(6): 987-991.

(编辑: 裴阿卫)