阿司匹林和复方新诺明对大豆种子萌发及活力的影响

杨晓杰 孙志琳

(齐齐哈尔大学生物系, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要 以大豆 (*Glycine max*) 种子为材料, 用不同浓度的阿斯匹林和复方新诺明水溶液, 在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下分别浸种 24 h 和 12 h, 测定大豆种子萌发过程中的各项生理生化指标以及萌发后的各形态指标。实验结果表明: 阿斯匹林和复方新诺明水溶液浸种都能有效地提高大豆种子的发芽率和活力指数, 还能促进大豆根系的生长。其中以 $62.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的阿斯匹林和 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的复方新诺明处理后的效果最为显著。阿斯匹林浸种能使大豆萌芽的相对电导率显著降低, 使活性氧清除酶的活性有所提高。复方新诺明浸种则使大豆萌芽的蛋白质含量以及氨基酸总量都有显著的提高。

关键词 大豆种子 阿斯匹林 复方新诺明 种子活力 种子萌发

EFFECTS OF ASPIRIN (ASP) AND SULFAMETHOXAZOLUM-TRIMETHO-PRIMUM (SMZ-TMP) ON GERMINATION AND VIGOR OF SOYBEAN SEEDS

YANG Xiao-Jie and SUN Zhi-Lin

(Department of Biology, Qiqihaer University, Qiqihaer, Heilongjiang 161006, China)

Abstract The influences of different concentrations of ASP and SMZ-TMP on seed germination of soybean (*Glycine max*) were studied. The results indicated that the germination percentages, vigor index and root development were increased by presoaking the seeds in ASP and SMZ-TMP solutions. The optimal concentrations of ASP and SMZ-TMP soaking solutions are $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (24 h) and $62.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (12 h), respectively. The results also showed that, the relative conductivity of soybean seedlings was decreased by ASP soaking pretreatment, while scavenger enzymes were increased. Seed protein and amino acid content were increased by SMZ-TMP soaking pretreatment.

Key words Soybean seed, Aspirin (ASP), Sulfamethoxazolum-trimetho-primum (SMZ-TMP), Seed vigor, Seed germination

大豆种子活力直接影响到田间种植及最终产量。由于大豆种子储藏期间活力容易下降, 使萌发率降低, 幼苗生长缓慢。为了提高播种质量, 获得齐苗、壮苗, 探索提高大豆萌芽活力的方法具有十分重要的意义(宰学明等, 2001)。钼素等微量元素对大豆种子等豆科植物的增产显著(马凤歧等, 1997; 谭迎华等, 2000)。近年来利用聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)渗透处理大豆种子, 表明可提高种子活力和抗寒力(洪法水等, 1997a; 1997b)。有关阿斯匹林(Aspirin, ASP, 乙酰水杨酸的商品名)在植物体内的作用已有研究报道(李德红等, 1995), 多将其应用在作物盐害的缓解作用上(张士功等, 1999); 尽管阿斯匹林在调节植物生长发育的应用报道不少, 并已应用于小麦、水稻种子取得了较好的效果(汤菊香

等, 1998), 但将其应用于大豆种子萌发的研究还未见报道。另外一种药物复方新诺明(Sulfamethoxazolum-trimetho-primum, SMZ-TMP)为磺胺类药物, 能阻断细菌的叶酸代谢, 阻碍核酸合成, 抑制细菌的生长, 在医学上广泛用于细菌性感染疾病的治疗。刘兴坦等(1998)研究了 SMZ-TMP 对小麦种子萌发和幼苗生长以及 SMZ-TMP 浸种对大豆幼苗地上部位和根系生长的影响(1998), 但对大豆种子萌发活力及各项生理生化指标的研究却未见报道。本文研究了阿斯匹林和复方新诺明对大豆种子萌发及活力的影响, 着重测量了 SOD、POD 等与抗逆性有关的生理生化指标, 为揭示这两种药物对植物的影响提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料来源

1.1.1 供试种子

大豆 (*Glycine max*) 品种‘合丰 35 号’, 为齐齐哈尔种子公司 2001 年采收的种子。

1.1.2 供试药品

阿斯匹林为吉林道君药业股份有限公司出品, 每片含 25 mg 乙酰水杨酸; 复方新诺明片(复方磺胺甲噁唑片)为上海新业药业闵行有限公司出品, 每片含磺胺甲噁唑 0.40 g、甲氧苄啶 0.08 g。

1.2 材料预处理

挑选出大小一致、颗粒饱满、各部分结构完整且健康无病的种子, 按常规方法用 0.1% 的 HgCl_2 处理 15 min, 以无菌水冲洗数次, 吸干表面水分, 备用。

1.2.1 阿斯匹林预处理

将冲洗干净的种子取 5 份, 每份 200 粒, 分别用 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (对照组)、 $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $62.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $75\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ASP 水溶液于 $(20\pm1)^\circ\text{C}$ 下浸泡 24 h。

1.2.2 复方新诺明预处理

将冲洗干净的种子取 3 份, 每份 200 粒, 分别用 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (对照组)、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SMZ-TMP 水溶液于 $(20\pm1)^\circ\text{C}$ 下浸泡 12 h。

1.3 种子萌发实验

对照组和每种处理条件均设 3 个平行组, 随机取样, 每组 30 粒。置于直径 10 cm 的培养皿内培养, 培养皿底铺有滤纸, 每个培养皿中盛 30 ml 蒸馏水, 恒温箱 $((23\pm1)^\circ\text{C})$ 中避光萌发。每隔 24 h 记录各形态变化及测定生理生化指标。同样取预处理后的 24 组种子 (每组 20 粒), 将其置于砂土与菜园土各半的穴盘中, 置于室温散射光下培养, 萌发至长

出第一片真叶后开始测量各项形态指标。

1.4 测定项目及方法

1.4.1 形态指标的测定

待培养皿中的各处理种子萌发后, 统计发芽种子的个数 (以突破种皮为准), 计算发芽率和活力指数。待幼苗长出第一片新叶时, 测量幼苗的苗长和根长, 以及主根长、根条数。计算出根冠比。

1.4.2 生理生化指标的测定

种子萌发后, 取萌发后的相关部位测量各项生理生化指标。按张志良 (1990) 的方法测定蛋白质含量和 POD 活性, 郭勇 (1996) 的方法测定氨基酸总量和 SOD 活性。

相对电导率的测定: 选取不同处理的大豆萌芽, 将其浸没于锥形瓶去离子水中, 定容至 20 ml, 放在室温下 12 h, 用 DDS-II 型电导仪测定电导值 S_1 , 然后将各锥形瓶放置于沸水浴中 10 min, 取出后定容至 20 ml, 用电导仪测定其电导值 S_2 , 相对电导率 = $S_1/S_2 \times 100\%$

以上各项生理生化指标的测定均进行 3 次重复, 取平均值。

1.4.3 检验方法

各组数据采用 *t* 检验法检验差异显著性。

2 实验结果

2.1 种子活力

经不同浓度处理液浸种后, 大豆种子的发芽率、幼苗的生长量及活力指数均比对照有所提高, 经 *t* 检验比较后表明用 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $62.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 ASP 浸种 24 h 和用 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 SMZ-TMP 浸种 12 h 处理后的种子活力最高, 与对照比较差异显著 (表 1)。

2.2 幼苗根系生长

从表 2 可见, 各种浓度 ASP 处理的幼苗主根长

表 1 不同浓度 ASP 和 SMZ-TMP 溶液预处理对大豆种子活力的影响
Table 1 Effect of different concentrations of ASP or SMZ-TMP pretreatment on soybean seed vigor

处理 Pretreatment ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	发芽率 (% $\pm$ SE) Germination	苗长 (cm $\pm$ SE) Seedling height	活力指数 Vigor index ¹⁾
CK	76 $\pm$ 2.7	7.79 $\pm$ 0.45	308.09
ASP 25	82 $\pm$ 2.3	9.39 $\pm$ 0.50	371.84
ASP 50	85 $\pm$ 2.5*	11.23 $\pm$ 0.56*	475.14*
ASP 62.5	88 $\pm$ 1.9*	10.98 $\pm$ 0.49*	461.70*
ASP 75	80 $\pm$ 1.7	8.70 $\pm$ 0.44	355.57
SMZ-TMP 0.2	90 $\pm$ 2.0*	11.27 $\pm$ 0.57	443.36*
SMZ-TMP 0.5	93 $\pm$ 2.4*	13.16 $\pm$ 0.59*	549.69*
SMZ-TMP 1.0	84 $\pm$ 1.7	8.24 $\pm$ 0.49	317.73

1) 活力指数 = 发芽指数 $\times$ 苗长 Vigor index = Germination $\times$ Seedling height * 用 *t* 检验在 *p* = 5% 水平与对照比较差异显著 Significant difference from contrast at *p* = 5% level with *t* test

表 2 不同浓度 ASP 溶液预处理对大豆幼苗根系生长的影响
Table 2 Effect of different concentrations of ASP pretreatment on root growth of soybean seedling

处理 Pretreatment (mg·L ⁻¹)	主根长度 (cm ± SE) Length of main root·plant ⁻¹	根条数 (条/株 ± SE) No. of roots ·plant ⁻¹	根冠比 ¹⁾ ± SE Root/shoot	根鲜重(g·株 ⁻¹ ± SE) Root fresh weight (g·plant ⁻¹)	根干重(g·株 ⁻¹ ± SE) Root dry weight (g·plant ⁻¹)
0(CK)	6.86 ± 0.21	25.2 ± 1.81	0.88 ± 0.004	1.032 7 ± 0.61	0.061 3 ± 0.003
25	8.74 ± 0.28	34.4 ± 1.94	0.93 ± 0.032	1.380 2 ± 0.72	0.068 6 ± 0.002
50	10.68 ± 0.18 *	37.8 ± 1.87	0.95 ± 0.043	1.566 3 ± 0.58	0.072 1 ± 0.002
62.5	11.42 ± 0.23 *	42.3 ± 2.03 *	1.04 ± 0.038 *	1.851 6 ± 1.02 *	0.090 8 ± 0.006 *
75	7.92 ± 0.17	40.7 ± 2.18	0.91 ± 0.029	1.275 8 ± 0.58	0.064 5 ± 0.005

1)根冠比 = 根长/苗长 Root/shoot = Root length/seedling height * 用 *t* 检验在 *p* = 5% 水平与对照比较差异显著 * Significance different from contrast at *p* = 5% level with *t* test

度、根条数、根冠比、根鲜重以及根干重均有所增加，但干重的增加低于鲜重。ASP 浸种后有效地使大豆幼苗根系各项指标得到了提高，其中以 62.5 mg·L⁻¹ 的 ASP 处理后的根系活力最强，各项指标与对照比均差异显著。根系活力的增强对大豆幼苗的生长和抗旱性的形成是有利的。随着 ASP 浓度的增加各项指标也随之增加，当浓度达到 75 mg·L⁻¹ 时各项指标增加很少，结果显示以 62.5 mg·L⁻¹ 的 ASP 浸种 24 h 处理后的大豆幼苗根系生长的最好。

2.3 相对电导率

2.3.1 ASP 浸种对大豆萌发过程中相对电导率的影响

如图 1 所示，随着时间的推移，相对电导率不断升高。各种浓度 ASP 浸种后的大豆种子在萌发过程中的相对电导率与对照组相比较都有所降低。由图 1 可知，50 mg·L⁻¹ 的 ASP 预处理后，其相对电导率最低。

图 1 不同浓度 ASP 预处理对大豆萌发过程中相对电导率的影响
Fig.1 Effect of different concentrations of ASP pretreatment on relative conductivity during soybean seed germination

2.3.2 SMZ-TMP 浸种对大豆萌发过程中相对电导率的影响

如图 2 所示，SMZ-TMP 浸种后的大豆种子在萌发过程中的相对电导率与对照组比较变化不大。其中只有 1.0 mg·L⁻¹ 的 SMZ-TMP 预处理后的大豆种子相对电导率明显降低。这表明这两种药液能够提

高大豆种子的抗渗透胁迫能力，使种子萌发期间的渗漏有所下降。影响膜系统渗漏的因素之一是种子本身对膜系统的修补能力，即修补能力越强，膜系统的渗漏性越小，膜的稳定性越强，其相对电导率就越低，其中以 1.0 mg·L⁻¹ 的 SMZ-TMP 处理后效果最好。

图 2 不同浓度 SMZ-TMP 预处理对大豆萌发过程中相对电导率的影响
Fig.2 Effect of different concentrations of SMZ-TMP pretreatment on relative conductivity during soybean seed germination

2.4 蛋白质含量及氨基酸总量

2.4.1 ASP 浸种对大豆萌芽蛋白质含量及氨基酸总量的影响

从表 3 可见不同浓度的 ASP 浸种后的大豆萌芽与对照相比总体来说(除 62.5 mg·L⁻¹ 浓度外)蛋白质及氨基酸总量提高甚少。只有经 62.5 mg·L⁻¹ 的 ASP 浸种后的大豆萌芽中的蛋白质含量提高了 12%，氨基酸总量提高了 15%，与对照组比较差异显著。

2.4.2 SMZ-TMP 浸种对大豆萌芽蛋白质含量及氨基酸总量的影响

从表 4 可见不同浓度的 SMZ-TMP 浸种后的大豆萌芽与对照相比，随着浓度的增加，蛋白质含量及氨基酸总量不断升高。其中 0.5 mg·L⁻¹、1.0 mg·L⁻¹ 的 SMZ-TMP 浸种后的大豆萌芽中的蛋白质和氨基酸含量增加与对照比较差异显著，蛋白质含

表 3 不同浓度 ASP 溶液对大豆萌芽蛋白质含量及氨基酸总量的影响
Table 3 Effect of different concentrations of ASP pretreatment on protein content and amino acid content of soybean seed

处理 Pretreatment (mg·L ⁻¹)	蛋白质含量 Protein content (mg·ml ⁻¹ ± SE)	氨基酸总量 Amino acid content (mg·(100 g) ⁻¹ ± SE)
0	1.243 ± 0.08	52.8 ± 1.8
25	1.256 ± 0.07	53.3 ± 1.6
50	1.248 ± 0.09	52.9 ± 1.3
62.5	1.392 ± 0.06	60.72 ± 2.1 *
75	1.287 ± 0.08	54.2 ± 1.5

* 用 *t* 检验在 *p* = 5% 水平与对照比较差异显著 Significant difference from contrast at *p* = 5% level with *t* test

表 4 不同浓度 SMZ-TMP 溶液对大豆萌芽蛋白质含量及氨基酸总量的影响
Table 1 Effect of different concentrations of SMZ-TMP pretreatment on protein content and amino acid content of soybean seed

处理 Pretreatment (mg·L ⁻¹)	蛋白质含量 Protein content (mg·ml ⁻¹ ± SE)	氨基酸总量 Amino acid content (mg·(100 g) ⁻¹ ± SE)
0	1.243 ± 0.08	52.8 ± 0.06
0.2	1.385 ± 0.15	58.3 ± 0.07
0.5	1.421 ± 0.17 *	63.6 ± 0.12 *
1.0	1.529 ± 0.19 *	67.1 ± 0.26 *

* 用 *t* 检验在 *p* = 5% 水平与对照比较差异显著 Significant difference from contrast at *p* = 5% level with *t* test

量提高了 31%,氨基酸总量提高了 27%。植物根系吸收、同化的氮素主要以氨基酸和酰胺的形式进行运输,所以氨基酸总量高的处理其耐受性要好于低的处理(洪法水等,1997b)。

2.5 活性氧清除酶活性

2.5.1 SOD

如图 3 所示,ASP 浸种提高了 SOD 活性,随着浓度的提高 SOD 的活性也随之提高,达到峰值时浸种浓度为 62.5 mg·L⁻¹。当浸种浓度为 75 mg·L⁻¹时,SOD 活性反而下降。图 4 所示对于用 SMZ-TMP 浸种的各处理 SOD 活性变化皆不大,只有 1.0 mg·L⁻¹ 的 SMZ-TMP 浸种后的萌芽中 SOD 活性略有增加。

图 3 不同浓度 ASP 预处理对大豆萌芽 SOD 活性的影响
Fig.3 Effect of different concentrations of ASP on the activity of SOD in soybean seed

2.5.2 POD

与对 SOD 活性的影响十分相似,ASP 浸种的各个处理对 POD 活性的增加更为显著,随着 ASP 浓度的增高,POD 的活性也随之增高,其中当浸种浓度为 62.5 mg·L⁻¹时,POD 活性增高的幅度最大(图 5)。SMZ-TMP 浸种的各处理 POD 活性变化甚微,只有 0.5 mg·L⁻¹ 的 SMZ-TMP 浸种后的萌芽中 POD 活性

增加了 10%(图 6)。

图 4 不同浓度 SMZ-TMP 预处理对大豆萌芽 SOD 活性的影响
Fig.4 Effect of different concentrations of SMZ-TMP on the activity of SOD in soybean seed

图 5 不同浓度 ASP 预处理对大豆萌芽中 POD 活性的影响
Fig.5 Effect of different concentrations of ASP on the activity of POD in soybean seed

3 结论与讨论

阿斯匹林浸种不但能有效地提高种子活力,并且还能促进大豆幼苗根系生长,实验表明,62.5 mg·L⁻¹是适宜的作用浓度,各项形态指标与对照组比较均差异显著。ASP 浸种使大豆萌芽的相对电导率降低,它们通过降低其相对电导率并且大大提高

图 6 不同浓度 SMZ-TMP 预处理对大豆萌芽中 POD 活性的影响
Fig.6 Effect of different concentrations of SMZ-TMP on the activity of POD in soybean seed

了大豆萌芽活性氧清除酶的活性,从而能在很大程度上提高植物的抗逆性,增强种子活力。本实验与汤菊香等(1998)、张士功等(1999)对小麦种子的研究结果相似。

超氧化物歧化酶(SOD)是活性氧清除酶体系中的关键酶。在大豆萌发过程中,SOD 活性逐渐升高,与呼吸速率的增强相协调。过氧化物酶(POD)是体内 H₂O₂ 的清除酶之一,与 SOD 协同清除机体在代谢过程中产生的活性氧。实验结果显示了用 SMZ-TMP 预处理的各组酶活性变化不显著,而用 ASP 预处理后的各组抗氧化酶活性提高十分明显。SOD 和 POD 的增强会大大提高植物的抗逆能力,O₂⁻ 是逆境胁迫的产物,各种理化因子诱导机体内 O₂⁻ 的形成,从而促进 SOD 等抗氧化酶基因的表达和酶原的激活。随着 SOD、POD 活性的升高,有利于消除大豆萌芽中形成的 O₂⁻,从而减少由于 O₂⁻ 的大量生成导致的膜系统活性氧损伤(李瑞智等,1984),对于降低膜脂过氧化,维持细胞质膜的稳定性和完整性,提高对离子吸收和运输的选择性都具有一定的意义。一定浓度的复方新诺明浸种能显著地提高种子活力,0.5 mg·L⁻¹ 的 SMZ-TMP 浸种后大豆发芽率、活力指数提高的幅度极大;与刘兴坦等(1998)对大豆幼苗生长的影响研究结果相吻合,这种方法预处理对大豆萌芽中的蛋白质含量和氨基酸总量都起到了提高的作用。

一定浓度的这两种药物都能使大豆种子的活力有显著提高,很可能是种子在预处理期间提前启动或加强了萌发的代谢过程,促进了生长发育,为最

终提高产量打下了必要的物质基础,为生产实践中提高大豆的抗逆性、提高产量提供了新的可能的途径。

参 考 文 献

Guo, Y. (郭 勇). 1996. Modern biochemical technology. Guangzhou: South China University of Technology Press. (in Chinese)

Hong, F.S. (洪法水), C.C. Ma (马成仓), X.M. Wang(王旭明) & G.M. Ji(姬广民). 1997a. Effect of polyvinyl alcohol pre-treatment on seed germination metabolism and growth of wheat. Acta Agronomica Sinica (作物学报), **23**: 247 ~ 251. (in Chinese with English abstract)

Hong, F.S. (洪法水) & H.Q. Zhao (赵海泉). 1997b. Effect of PEG and polyvinyl alcohol on seed vigor and cold resistance of cucumber seedlings. Acta Horticulturae Sinica (园艺学报), **24**: 395 ~ 396. (in Chinese with English abstract)

Li, D.H. (李德红) & R.Z. Pan(潘瑞炽). 1995. The role of salicylic acid in plant. Plant Physiology Communications (植物生理学通讯), **31**: 144 ~ 149. (in Chinese)

Li, R.Z. (李瑞智) & L. Huang (黄林). 1984. Effect of sulfur dioxide on peroxidase of crops leaves. Journal of Southwest China Normal University (西南师范大学学报), **9**: 380 ~ 385. (in Chinese with English abstract)

Liu, X.T. (刘兴坦), Q.G. Sun (孙全根) & L.Z. Chen (陈良忠). 1998. Effect of sulfamethoxazolum-trimethoprimum on seedling growth of soybean. Plant Physiology Communications (植物生理学通讯), **34**: 103 ~ 105. (in Chinese)

Ma, F.Q. (马凤歧), H.Q. Zhao(赵怀芹) & X.P. Chen(陈新平). 1997. Syntheses and application of a new micronutrient fertilizer for leguminous plant. Journal of China Agricultural University (中国农业大学学报), **2**: 72. (in Chinese with English abstract)

Tan, Y. H. (谭迎华) & G.H. Yue (岳桂华). 2000. The biological effects of soybeans seeds processed by Molybdenum-phosphoric-acid-potassium. Journal of Liaoning Normal University (Natural Science Editor) (辽宁师范大学学报(自然科学版)), **23**: 194 ~ 196. (in Chinese with English abstract)

Tang, J. X. (汤菊香), M. J. Li(李明军), X. Y. Wei(卫秀英), X. Xue(薛香) & H. Fan(范红). 1998. Ca²⁺ and ASP affect the germination of wheat and the growing of seedling. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition) (河南师范大学学报(自然科学版)), **26**: 103 ~ 106. (in Chinese with English abstract)

Zai, X. M. (宰学明), G.R. Wu (吴国荣), C.M. Lu (陆长梅), G.P. Gu (顾龚平) & N. Wang (王娜). 2001. The effects of pre-chilling on vigor index and active oxygen metabolism of soybean seeds. Soybean Science (大豆科学), **20**: 163 ~ 166. (in Chinese with English abstract)

Zhang, S.G. (张士功), J.Y. Gao (高吉寅) & J.Z. Song (宋景芝). 1999. Mitigative effects of salicylic acid and aspirin on salt stress-induced injuries in wheat. Acta Physiologica Sinica (植物生理学报), **25**: 159 ~ 164. (in Chinese with English abstract)

Zhang, Z.L. (张志良). 1990. Experimental guide to plant physiology. 2nd ed. Beijing: China Higher Education Press. 133 ~ 135. (in Chinese)