

高压静电场对绿豆萌发和抗氧化生理影响的差异

安婷^{1*}, 戎玲玲², 孙惠敏², 沈盟¹, 王复标^{1#}

¹井冈山大学数理学院, 江西 吉安

²井冈山大学生命科学学院, 江西 吉安

收稿日期: 2023年10月30日; 录用日期: 2024年1月8日; 发布日期: 2024年1月18日

摘要

为了探明高压静电场对绿豆(*Vigna radiata* L.)种子萌发生长调控的有效性及其对抗氧化生理的影响, 研究了不同方向和强度高压静电场对绿豆种子萌发特性及其抗氧化特性影响的差异性。结果表明, 同一强度(3 kV/m)高压正静电场处理对2个绿豆品种的发芽率、简化活力指数、芽长和根长都有明显的促进作用, 相同强度的高压负静电场对2个绿豆品种的简化活力指数和芽长的生物学效应相反。不同方向高压静电场处理对2个绿豆品种鲜重的影响不明显。抗氧化生理研究显示, 2个绿豆品种的SOD活性和O₂⁻含量出现峰值时的高压正静电场处理强度相同, 小于12 kV/m高压正静电场处理可以诱导O₂⁻激活2个绿豆品种的SOD活性。2个绿豆品种萌发时的抗坏血酸含量(ASA)对不同强度高压正静电场处理表现不敏感, 其萌发过程中H₂O₂的清除可能主要由CAT调控, 而与APX无关。研究探讨了不同方向和强度高压静电场对绿豆种子萌发和抗氧化生理影响差异的原因。

关键词

高压静电场, 绿豆, 萌发特性, 形态学指标, 抗氧化生理

Effects Comparison of the Germination and Antioxidant Physiology of Mung Bean Treated by High-Voltage Electrostatic Field

Ting An^{1*}, Lingling Rong², Huimin Sun², Meng Shen¹, Fubiao Wang^{1#}

¹College of Mathematics and Physics, Jinggangshan University, Ji'an Jiangxi

²College of Life Sciences, Jinggangshan University, Ji'an Jiangxi

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 安婷, 戎玲玲, 孙惠敏, 沈盟, 王复标. 高压静电场对绿豆萌发和抗氧化生理影响的差异[J]. 植物学研究, 2024, 13(1): 28-38. DOI: 10.12677/br.2024.131004

Abstract

To clarify the effectiveness of high-voltage electrostatic field in regulating seed germination and growth, as well as their impact on antioxidant physiology, two mung beans cultivars (*Vigna radiata* L.) were used to compare the differences in germination characteristics and antioxidant properties. The results showed that the high-voltage positive electrostatic field at the same intensity (3 kV/m) significantly promoted the germination rate, simplified vigor index, shoot length and root length of the germinating seeds of two mung beans cultivars. However, the high-voltage negative electrostatic field with the same intensity had opposite effects on the simplified vigor index and shoot length. The influence of high-voltage electrostatic field with different directions on the fresh weight of the two mung beans was not significant. The antioxidant physiological study found that the SOD activity and O_2^- content of the two mung bean varieties reached their peak under the same intensity of high-voltage positive electrostatic field. Additionally, the SOD activity of the two mung bean varieties could be stimulated by O_2^- when the intensity of high-voltage positive electrostatic field was below 12 kV/m. The contents of ascorbic acid (ASA) in the two mung bean cultivars were not sensitive to the high-voltage positive electrostatic fields with different intensities. The scavenging of H_2O_2 is mainly regulated by CAT, and is unrelated to APX during seed germination. The study discussed the reasons for the differences in the effects of high-voltage static electric fields with different directions and intensities on mung bean seed germination and antioxidant physiology.

Keywords

High-Voltage Electrostatic Field, Mung Beans, Characteristics of Germination, Morphological Indicators, Antioxidant Physiology

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

绿豆芽，即豆科植物绿豆浸泡后萌发生长出的嫩芽，具有性凉味甘、营养丰富、口感极富脆性等特点，长期食用不仅能清热解暑、利尿消肿和滋阴补肾，还能保护心脑血管、防治冠心病、降低血脂和提高免疫力，是深受国人喜爱的一种芽菜。在豆芽菜的实际生产过程中，种子萌发后生长机能的优劣直接决定了豆芽菜的品质。

前人研究表明，提高种子萌发活力被认为是提高种子发芽后生长机能的有效方式之一[1][2]。前人主要通过外源添加植物激素或者渗透调节物质提高种子萌发活力，例如，朱泯亦等(2020)的研究表明，通过外源喷施一定浓度的赤霉素(GA)、生长素(IAA)、芸苔素内酯(BR)和乙烯可以明显提高杂交水稻 II 优 7954 种子的活力和产量[3]。魏晓梅等(2017)的研究也发现，采用一定浓度的植物生长调节剂浸种，不仅可以明显缩短玉米和水稻种子的发芽时间，而且种子的发芽率、发芽势和活力指数也都有不同程度的提高[4]。采用不同类型的盐分对野生大豆种子进行浸泡处理发现，低浓度的 Na_2SO_4 和 Na_2CO_3 可以明显提高大豆种子的发芽率、发芽势和发芽指数，高浓度的 $NaCl$ 、 Na_2SO_4 和 Na_2CO_3 则明显抑制种子的萌发[5]。截止目前，虽然大量的研究已证实植物激素浸泡、化学灭菌等方法均能不同程度的提高种子的萌发活力，提高作物产量，改善

农产品品质,但是经植物激素或者化学试剂处理过的种子生产出来的农产品都不可避免的面临农残超标,其中,经植物激素催发的无根豆芽,更是被国家食品卫生管理部门列为明文禁止销售和食用的芽菜之一。

高压静电场处理技术是近些年来兴起的一种新兴种子处理方法,该技术以静电场作为刺激因素,可以对吸涨后的种子细胞内部的酶、细胞膜等施加电场作用,从而优化其细胞内极性大分子物质和细胞膜内外电位,以达到促进种子萌发和生长的目的。前人研究表明,高压静电场对大麦、高粱、番茄和甜菜等农作物种子的生长发育均有明显的生物学效应[6] [7] [8]。在探究电场生物学效应的机理研究中,前人研究发现,在高压静电场处理的甜菜和大麦种子中,其 ROS 含量的升高被认为是高压静电场促进种子萌发的原发机制[9]。对不同类型电场处理的绿豆种子萌发时的生物学效应研究也发现,极低频脉冲电场和高压静电场对绿豆种子萌发时的生物学效应差异主要与其 ROS 含量的差异有关[10]。抗氧化保护酶系统是清除 ROS 的重要酶促系统,可以迅速清除各种生理代谢产生的 ROS。然而,截止目前,对高压静电场如何通过抗氧化保护酶系统调控 ROS 含量来影响作物种子萌发时的生物学效应的研究则还鲜有报道。此外,由于高压静电场处理是一种纯物理过程,不涉及化学试剂的使用,处理过程不会对环境造成污染,且处理后的农产品也无农残等问题,因此,该技术已引起国内外科研工作者的广泛关注。为了探究不同方向和强度高压静电场对作物种子的生物学效应的有效性,本文以绿豆为材料,比较研究了不同方向和强度高压静电场处理对绿豆萌发特性及其抗氧化生理影响的差异,从而为研究电磁技术的生物学效应提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

采用普通绿豆和高原小绿豆(均购自于安徽省燕之坊食品有限公司)为试验材料,其中,普通绿豆的表型特征为翠绿色,粒大颗匀;高原小绿豆的表型特征为深绿色,粒小颗匀。

2.2. 高压静电场处理装置

高压静电场采用型号 HE-Z103-1AC (天津恒搏高压电源厂)的高压直流电源激发,该电源输出电压连续可调,高压静电场下层为 2 mm 厚的铜板,上层为铜网,以场强方向竖直向下为高压正静电场,场强方向竖直向上为高压负静电场,详见图 1。



Figure 1. High-voltage electrostatic field device (Left: Negative high-voltage (-/+) electrostatic field; Right: Positive high voltage (+/-) electrostatic field)

图 1. 高压静电场激发装置(左: 高压负(-/+)静电场; 右: 高压正(+/-)静电场)

2.3. 试验方法

试验 1 (不同方向高压静电场处理): 挑选大小基本一致、颗粒饱满的普通绿豆和高原小绿豆,经 1% 的次氯酸钠溶液消毒 10 min 后,用蒸馏水清洗 3 次,然后将消毒后的绿豆在室温下浸泡并充分吸涨后,

用镊子将2个绿豆品种播种于营养钵中(高×直径为:9×10 cm),每个营养钵装2/3高度的营养土,每个营养钵播种绿豆50颗。实验设高压正静电场、高压负静电场和对照CK(不进行高压静电场处理)3个处理。试验以每个营养钵作为1个生物学重复,每处理设6次重复。高压静电场处理时间为每天2 h(预实验表明,高压静电场处理大于3 h,绿豆芽菜会明显变红,因此本研究时间设定为2 h),电场强度设置为3和6 kV/m,处理后将营养钵置于人工智能气候箱(型号:PRX-450D,宁波赛福)中进行萌发生长,培养箱的生长参数设置为:温度37℃,湿度75%,光照强度0 LUX,因3和6 kV/m高压正、负静电场处理后的绿豆的萌发特性(发芽率和发芽势)和形态学指标(根长、芽长和鲜重)无显著性差异,3和6 kV/m高压正、负静电场处理间无显著性差异,因此,本文仅对3 kV/m高压正、负静电场处理后的试验结果加以分析。试验2(不同强度高压正静电场处理):基于试验1的实验结果得出高压正静电场处理可以促进2个绿豆品种的萌发。绿豆播种同试验1,分别用强度0、2、4、6、8、10、12和24 kV/m的高压正静电场进行处理,每个电场强度处理设6次重复,高压静电场处理时间和处理后的萌发处理同试验1,待高压正静电场处理3天后,取3组萌发绿豆,用液氮速冻后保存于超低温冰箱,待后续抗氧化生理指标的测定,因8和10 kV/m高压正静电场处理的萌发特性和抗氧化指标分别与6和12 kV/m的基本相同,故本文未对8和10 kV/m高压正静电场的试验数据进行展示。

2.4. 绿豆萌发参数和形态学指标的测量

本研究以绿豆胚根突破种皮1 mm为绿豆已发芽的标准,在高压静电场处理3天后测定绿豆的根长、芽长和鲜重,每次测定3个生物学重复。由于2绿豆品种在不同高压静电场处理后第3天的发芽数已不再增加,而处理第2天未完全发芽,故可以分别用以表征高压静电场处理时2绿豆品种的发芽率和发芽势。绿豆的发芽率、发芽势和简化活力指数的计算公式如下[4]:

发芽率(%) = (第3天内发芽的绿豆数/供试绿豆数) × 100%;

发芽势(%) = (第2天内发芽的绿豆数/供试绿豆数) × 100%;

简化活力指数 = 第3天绿豆的发芽率 × 第3天绿豆芽总长度。

2.5. 可溶性蛋白、超氧阴离子(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)和抗坏血酸(ASA)含量的测定

称取萌发后的绿豆鲜样0.5 g,加入0.05 mol/L的磷酸缓冲液(pH7.8)5 mL,冰浴上研磨至匀浆,提取液在4000 ×g、4℃下离心10 min,上清液再用8000 ×g、4℃下离心15 min,上清即为样品提取液。可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝比色法[11],以牛血清蛋白做标准曲线计算萌发绿豆种子中的可溶性蛋白含量。O₂⁻含量采用盐酸羟胺氧化法测定[12]。H₂O₂含量采用硫酸钛比色法测定[13]。采用10%的三氯乙酸提取ASA,其含量的测定采用邻苯二胺显色法[14]。

2.6. 超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化氢酶(CAT)活性的测定

SOD和APX活性的测定参照Cakmak and Marschner(1992)的方法[15],其中,SOD活性采用氮蓝四唑(NBT)光氧化法,以SOD抑制NBT50%作为一个酶活单位(U);APX活性采用抗坏血酸(AsA)氧化法,根据H₂O₂氧化AsA速率计算APX活性。CAT活性的测定采用紫外吸收法[16],根据240 nm波长下的吸光度下降速率计算CAT活性。

3. 结果与分析

3.1. 不同方向同一强度(3 kV/m)高压静电场对绿豆萌发特性和形态学指标的影响

由表1可知,不同方向同一强度(3 kV/m)高压静电场对普通绿豆和高原小绿豆的发芽率和发芽势存在明显影响。与对照处理(CK)相比,高压正静电场显著提高了普通绿豆的发芽率和发芽势。与对照处理(CK)

相比, 高压正静电场显著提高了高原小绿豆的发芽率, 发芽势则与对照基本相同。高压负静电场对 2 个绿豆品种的发芽率和发芽势的生物学效应不同, 与对照处理相比, 高压负静电场处理明显降低了普通绿豆发芽率和发芽势, 而高原小绿豆的发芽率和发芽势与对照处理相比无显著性差异。简化活力指数是表征作物种子活力强弱的重要指标[4]。不同方向同一强度(3 kV/m)高压静电场处理对 2 个绿豆品种的简化活力指数的生物学效应不同, 与对照处理相比, 高压正静电场处理显著提高了 2 个绿豆品种的简化活力指数, 而高压负静电场处理则明显抑制 2 个绿豆品种的简化活力指数。

Table 1. Effects of different directions of high-voltage electrostatic fields on the germination rate, germination potential and simplified vigor index of mung bean

表 1. 不同方向高压静电场对绿豆发芽率、发芽势和简化活力指数的影响

品种	处理	发芽率(%)	发芽势(%)	简化活力指数
普通绿豆	CK	94.7 ± 0.5b	90.2 ± 1.3b	12.3 ± 0.7b
	高压正静电场	100.0 ± 0.0a	99.0 ± 0.0a	18.3 ± 1.1a
	高压负静电场	88.3 ± 2.5c	70.3 ± 1.1c	9.4 ± 0.5c
高原小绿豆	CK	94.8 ± 0.3b	95.2 ± 1.7a	13.7 ± 0.5b
	高压正静电场	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	17.6 ± 0.6a
	高压负静电场	97.0 ± 1.2ab	95.6 ± 1.7a	11.5 ± 0.5c

同列指标, 同一绿豆品种间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

由表 2 可知, 不同方向同一强度(3 kV/m)高压静电场处理对 2 个绿豆品种萌发后形态学指标的生物学效应不同。与对照处理相比, 高压正静电场显著提高了 2 个绿豆品种的根长和芽长。与对照处理相比, 高压负静电场对 2 个绿豆品种的根长无显著性影响, 但是明显降低了 2 个绿豆品种的芽长。与对照处理相比, 不同方向同一强度(3 kV/m)高压静电场处理对 2 个绿豆品种的鲜重无显著性影响。

Table 2. Effects of different directions of high-voltage electrostatic fields on the morphological phenotypes of mung bean after germination

表 2. 不同方向高压静电场对绿豆萌发后形态学指标的影响

品种	处理	根长	芽长	鲜重
普通绿豆	CK	6.2 ± 0.2b	6.8 ± 0.2b	1.5 ± 0.1a
	高压正静电场	8.6 ± 0.5a	9.7 ± 0.2a	1.6 ± 0.1a
	高压负静电场	5.3 ± 0.2b	5.4 ± 0.1c	1.5 ± 0.1a
高原绿豆	CK	6.6 ± 0.2b	7.8 ± 0.3b	1.1 ± 0.1a
	高压正静电场	8.4 ± 0.7a	9.2 ± 0.2a	1.1 ± 0.1a
	高压负静电场	6.3 ± 0.3b	5.6 ± 0.3c	1.0 ± 0.1a

同列指标, 同一绿豆品种间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

3.2. 不同强度高压正静电场对绿豆萌发特性和形态学指标的影响

由表 3 可知, 在不同强度高压正静电场处理下, 普通绿豆的发芽率和发芽势在 4 kV/m 时最高且显著高于对照, 在 24 kV/m 时最低。高原小绿豆的发芽率和发芽势在 4 和 6 kV/m 时显著高于对照, 在 24 kV/m

时发芽势显著低于对照, 发芽率则与对照无显著性差异。不同强度高压正静电场处理对 2 个绿豆品种简化活力指数的生物学效应基本相同, 均在 2 kV/m 时最高且显著高于对照, 在 4 和 6 kV/m 时与对照无显著性差异, 在 24 kV/m 时最低且显著低于对照。

Table 3. Effects of different strengths of positive high-voltage electrostatic fields on the germination rate, germination potential and simplified vigor index of mung bean

表 3. 不同场强度高压正静电场对绿豆发芽率、发芽势和简化活力指数的影响

处理 (kV/m)	普通绿豆			高原小绿豆		
	发芽率(%)	发芽势(%)	简化活力指数	发芽率(%)	发芽势(%)	简化活力指数
0	94.7 ± 1.2bc	90.1 ± 1.3b	12.6 ± 1.3b	94.8 ± 1.1b	94.7 ± 1.4b	13.4 ± 1.3bc
2	95.3 ± 1.2ab	95.3 ± 1.1ab	17.3 ± 1.2a	100.0 ± 0.0a	95.5 ± 1.0ab	16.7 ± 1.2a
4	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	13.3 ± 2.1b	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	15.2 ± 1.8ab
6	95.3 ± 2.4ab	95.3 ± 1.4ab	12.3 ± 0.9b	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	13.3 ± 1.1bc
12	90.5 ± 1.1c	74.8 ± 1.1c	9.6 ± 0.8c	94.7 ± 1.2b	90.3 ± 1.7b	11.5 ± 1.8cd
24	84.5 ± 0.7d	73.7 ± 2.6c	8.3 ± 1.2c	91.8 ± 1.3b	83.6 ± 2.3c	10.3 ± 0.6d

同一绿豆品种, 同列指标间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

由表 4 可知, 在不同强度高压正静电场处理下, 普通绿豆的芽长和根长在 2 kV/m 时最大且显著高于对照, 在 4 和 6 kV/m 时与对照无显著性差异, 在 12 和 24 kV/m 时显著低于对照。在不同强度高压正静电场处理下, 高原小绿豆的芽长和根长在 2 kV/m 时最大, 且芽长显著高于对照, 在 4、6 和 12 kV/m 时与对照无显著性差异, 在 24 kV/m 时最低且显著低于对照。在不同强度高压正静电场处理下, 2 个绿豆品种的鲜重与对照处理相比无显著性差异。

Table 4. Effects of different strengths of positive high-voltage electrostatic fields on the morphological phenotypes of mung bean after germination

表 4. 不同强度高压正静电场对绿豆萌发后形态学指标的影响

处理 (kV/m)	普通绿豆			高原小绿豆		
	根长(cm)	芽长(cm)	鲜重(g/株)	根长(cm)	芽长(cm)	鲜重(g/株)
0	6.3 ± 0.3b	7.0 ± 0.1b	1.6 ± 0.1a	6.3 ± 0.3ab	7.8 ± 0.4b	1.1 ± 0.1a
2	8.9 ± 0.1a	8.4 ± 0.2a	1.6 ± 0.2a	7.3 ± 0.1a	9.4 ± 0.2a	1.1 ± 0.1a
4	6.8 ± 0.1b	7.2 ± 0.3b	1.6 ± 0.1a	6.6 ± 0.1ab	8.6 ± 0.3ab	1.1 ± 0.0a
6	6.2 ± 0.2b	6.7 ± 0.2b	1.6 ± 0.0a	5.6 ± 0.2bc	7.7 ± 0.2b	1.1 ± 0.1a
12	5.4 ± 0.1c	5.2 ± 0.3c	1.6 ± 0.2a	5.3 ± 0.3bc	6.8 ± 0.2bc	1.1 ± 0.2a
24	5.1 ± 0.3c	4.7 ± 0.2c	1.5 ± 0.0a	5.2 ± 0.1c	6.0 ± 0.1c	1.0 ± 0.0a

同一绿豆品种, 同列指标间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

3.3. 不同强度高压正静电场对绿豆活性氧(Reactive oxygen species, ROS)含量的影响

前人对不同植物种子的研究表明, ROS 可以通过激活水解酶的合成来促进种子的萌发, 在种子萌发

过程中, 通常伴随 ROS 含量的上升[17] [18]。由表 5 可知, 在不同强度高压正静电场处理下, 2 个绿豆品种的 O_2^- 和 H_2O_2 含量均在 4 kV/m 时最高且显著高于对照, 在 24 kV/m 时显著低于对照。普通绿豆的 O_2^- 含量在 2 和 6 kV/m 时显著高于对照, 而 H_2O_2 含量在 2 和 6 kV/m 时与对照处理相比无显著性差异。高原小绿豆的 O_2^- 含量在 6 kV/m 时显著高于对照, 在 2 和 12 kV/m 时与对照处理相比无显著性差异。在不同强度高压正静电场处理下, 高原小绿豆的 H_2O_2 含量在 2 kV/m 时显著高于对照, 在 12 kV/m 时显著低于对照。

Table 5. Effects of different strengths of positive high-voltage electrostatic fields on O_2^- and H_2O_2 contents of mung bean after germination

表 5. 不同强度高压正静电场对绿豆萌发后 O_2^- 和 H_2O_2 含量的影响

处理(kV/m)	普通绿豆		高原小绿豆	
	O_2^- ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	H_2O_2 (nmol g^{-1})	O_2^- ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	H_2O_2 (nmol g^{-1})
0	20.1 ± 1.3c	167.0 ± 10.3b	16.4 ± 1.2b	117.3 ± 4.4c
2	27.7 ± 2.2b	171.2 ± 13.4b	16.7 ± 0.9b	136.7 ± 6.3b
4	39.8 ± 1.2a	248.4 ± 9.6a	27.3 ± 2.2a	169.4 ± 3.9a
6	30.1 ± 3.1b	176.2 ± 9.1b	25.5 ± 1.1a	117.7 ± 6.2c
12	14.1 ± 1.7d	145.2 ± 8.1c	14.1 ± 2.1bc	81.2 ± 4.2d
24	15.2 ± 1.4d	137.7 ± 12.4c	11.2 ± 0.8c	88.0 ± 3.1d

同一绿豆品种, 同列指标间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

3.4. 不同强度高压正静电场对绿豆可溶性蛋白和抗坏血酸(ASA)含量的影响

绿豆作为富含蛋白质的种子, 其萌发时可以在蛋白水解酶的作用下将种子中的储存蛋白转化为氨基酸。由表 6 可知, 在不同强度高压正静电场处理下, 2 个绿豆品种的可溶性蛋白含量与对照处理相比虽有所下降, 但均无显著性差异, 表明在不同强度高压正静电场处理下, 2 个绿豆品种萌发时并无新蛋白合成。ASA 含量的高低不仅决定了植物细胞的氧化还原水平, 其在抗氧化保护酶 APX 清除 H_2O_2 时更是作为其还原性底物[14]。在不同强度高压正静电场处理下, 2 个绿豆品种 ASA 含量与对照处理相比均无显著性差异。

Table 6. Effects of different strengths of positive high-voltage electrostatic fields on the soluble protein and ASA contents of mung bean after germination

表 6. 不同强度高压正静电场对绿豆萌发后可溶性蛋白和 ASA 含量的影响

处理(kV/m)	普通绿豆		高原小绿豆	
	可溶性蛋白(mg g^{-1})	ASA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	可溶性蛋白(mg g^{-1})	ASA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)
0	32.1 ± 2.1a	11.2 ± 0.3a	24.1 ± 2.2a	17.3 ± 1.2a
2	29.9 ± 2.2a	12.2 ± 1.4a	21.6 ± 1.9a	16.3 ± 2.3a
4	29.8 ± 1.2a	12.4 ± 1.6a	23.3 ± 1.2a	16.4 ± 0.7a

续表

6	31.0 ± 2.3a	12.1 ± 1.1a	21.5 ± 2.8a	17.7 ± 1.1a
12	30.4 ± 2.7a	11.2 ± 1.3a	22.1 ± 1.6a	17.2 ± 2.2a
24	29.4 ± 2.2a	10.7 ± 1.4a	21.2 ± 1.8a	18.0 ± 1.3a

同一绿豆品种，同列指标间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

3.5. 不同强度高压正静电场对绿豆抗氧化酶活性的影响

在种子萌发过程中，ROS 的过量积累会对细胞产生毒害作用，其清除主要由抗氧化保护酶调控[19]，为了明确不同强度高压正静电场对种子萌发过程中 ROS 含量的调控是否与其抗氧化保护酶活性变化有关，本文进一步研究了绿豆种子萌发过程中 SOD、CAT 和 APX 活性的变化。由表 7 可知，在不同强度高压正静电场处理下，2 个绿豆品种的 SOD 和 CAT 活性均在 4 kV/m 时最高，且在小于 12 kV/m 时显著高于对照处理，在 12 和 24 kV/m 时显著低于对照处理。在不同强度高压正静电场处理下，2 个绿豆品种的 APX 活性与对照处理相比均无显著性差异。

Table 7. Effects of different strengths of positive high-voltage electrostatic fields on the activities of SOD, CAT and APX of mung bean after germination

表 7. 不同强度高压正静电场对绿豆萌发后 SOD、CAT 和 APX 活性的影响

处理 (kV/m)	普通绿豆			高原小绿豆		
	SOD (U g ⁻¹ FW)	CAT (U g ⁻¹ FW)	APX (U g ⁻¹ FW)	SOD (U g ⁻¹ FW)	CAT (U g ⁻¹ FW)	APX (U g ⁻¹ FW)
0	42.4 ± 1.1c	77.1 ± 2.1c	16.1 ± 2.1a	33.3 ± 1.2c	57.8 ± 2.3c	11.0 ± 0.9a
2	61.3 ± 1.4b	87.6 ± 3.3b	17.1 ± 1.1a	46.6 ± 1.2b	68.6 ± 1.3b	10.2 ± 0.2a
4	79.8 ± 2.1a	128.3 ± 3.4a	16.6 ± 1.2a	51.3 ± 2.1a	79.4 ± 2.1a	12.1 ± 1.1a
6	62.0 ± 2.2b	92.7 ± 2.1b	15.6 ± 0.8a	45.6 ± 1.7b	67.7 ± 1.5b	11.8 ± 0.7a
12	34.4 ± 1.0d	52.3 ± 1.3d	17.6 ± 1.2a	25.3 ± 1.4d	50.8 ± 1.2d	12.2 ± 0.8a
24	31.2 ± 0.8e	47.7 ± 1.6e	16.4 ± 0.7a	21.2 ± 1.1e	45.0 ± 2.1e	10.8 ± 0.4a

同一绿豆品种，同列指标间不同小写字母表示在 5% 水平差异显著(n = 3, LSD)。

4. 讨论

由本文的研究结果可见，无论从 2 个绿豆品种的萌发特性还是萌发后的抗氧化生理指标来看，不同方向和不同强度高压静电场对绿豆萌发的生物学效应有很大不同。对于不同方向和不同强度高压静电场对种子萌发影响的差异，前人研究发现，当采用高压正静电场处理小麦和黄瓜种子时，其出苗率均提高 30% 以上，鲜重也都有不同程度的提高[20] [21]。李亚娇等(2015)对高压负电场处理后的甘草种子研究发现，一定剂量的高压负静电场可以降低甘草种子的发芽率、株高和根长[22]。本研究结果发现，不同方向高压静电场对 2 个绿豆品种萌发的生物学效应不同，其中同一强度(3 kV/m)高压正静电场可以明显提高 2 个绿豆品种的发芽率、简化活力指数、芽长和根长，而高压负静电场对 2 个绿豆品种的简化活力指数和芽长的生物学效应则刚好相反。王清元等(2005)采用不同强度高压正静电场对水稻种子处理时发现，当采用低强度高压正静电场处理时，水稻种子的发芽率和发芽势显著高于对照处理，而当处理强度大于一定

阈值时, 其发芽率和发芽势均明显受到抑制[23]。在本研究中, 与对照处理相比, 2个绿豆品种的发芽率和发芽势在高压静电场处理大于 12 kV/m 时明显受到抑制(除 24 kV/m 时高原小绿豆的发芽率), 在小于 12 kV/m 时则有不同程度的提高且在 4 kV/m 时显著高于对照。此外, 前人对小白鼠的研究也发现, 在高压正静电场中生长的小白鼠体重要明显高于对照组, 而在高压负静电场生长的小白鼠体重则明显低于对照[24]。由此可见, 不管是植物还是动物, 其在高压静电场处理时的生物学效应对电场的方向和强度都具有一定的选择性。

在种子萌发过程中, 随着细胞吸水后细胞膜修复和各类酶活化的增强, 其线粒体内膜电子传递链逐渐恢复完整, 呼吸代谢过程中氧化磷酸化的加强使呼吸链电子受体漏出的电子剧增而产生大量的 ROS [25] [26]。Zhou 等(2018)对不同植酸含量水稻种子萌发特性的研究表明, 外源添加一定浓度的 H_2O_2 可以促进低植酸水稻种子的萌发, 而当外源添加 ROS 产生抑制剂时, 水稻种子萌发明显受到抑制[27]。本研究结果发现, 在小于 12 kV/m 高压正静电场处理时, 2个绿豆品种的 O_2^- 和 H_2O_2 含量均不同程度高于对照且在 4 kV/m 含量最高, 在 12 kV/m 和 24 kV/m 高压正静电场处理时表现则刚好相反, 表现为 2个绿豆品种的 O_2^- 和 H_2O_2 含量明显低于对照(除 12 kV/m 时高原小绿豆的 O_2^- 含量)且在 24 kV/m 含量最低, 结合 2个绿豆品种在大于和小于 12 kV/m 高压正静电场处理时发芽率和发芽势的差异, 由此我们推测, 在不同强度高压正静电场处理下, 绿豆萌发时 ROS 含量的差异可能是引起其萌发生物学效应产生明显差异的重要生理原因之一。

大量研究表明, 在种子萌发过程中, 抗氧化保护酶活性的提高一方面可以消除由于 ROS 的大量积累可能对细胞造成的伤害, 另一方面, 则可以增强种子对各种生物和非生物逆境胁迫的适应性, 从而提高种子的萌发特性[17] [27]。在本研究中, 2个绿豆品种在小于 12 kV/m 高压正电场处理时的 SOD 活性均显著高于对照处理且在 4 kV/m 时活性最高, 表明 2个绿豆品种种子萌发时 SOD 活性达到峰值与 O_2^- 含量达到峰值时的高压静电场处理强度是一致的, 即都在高压正静电场 4 kV/m 时最高, SOD 活性和 O_2^- 含量的同步提高可以消除 O_2^- 的过度积累, 从而减小 O_2^- 对细胞的毒害作用, 这也可能是 4 kV/m 高压静电场处理时 2个绿豆品种发芽率和发芽势高于其他强度处理的重要生理原因。习岗等(2013)对极低频脉冲电场处理下作物种子萌发时的研究发现, 在作物种子萌发过程中, 其 SOD 活性达到峰值的时间与 O_2^- 含量出现峰值的时间相同, 且作物种子 SOD 活性的提高主要源于其 O_2^- 的激发所致而非重新合成[9]。本研究结果也发现, 在小于 12 kV/m 高压正电场处理时, 2个绿豆品种的可溶性蛋白含量与对照处理相比仅轻微下降, 表明在小于 12 kV/m 高压正电场处理时, 2个绿豆品种 SOD 活性的提高主要源于 O_2^- 的激活而非合成的增加。

作为清除 H_2O_2 的一类关键酶, CAT 在高压静电场处理的种子萌发过程中活性的变化规律现已基本明确[28]。朱诚等(2000)对适宜强度高压静电场处理后的老化黄瓜种子研究表明, 适宜强度的高压静电场处理可以明显提高老化黄瓜种子的 CAT 活性[29]。本研究结果发现, 2个绿豆品种在小于 12 kV/m 高压正电场处理时的 CAT 活性均显著高于对照处理且在 4 kV/m 时活性最高。然而, 作为清除 H_2O_2 的另一关键酶, APX 在高压静电场处理的种子萌发过程中活性的变化规律则尚未明确。在本研究中, 2个绿豆品种在不同强度高压静电场处理时的 APX 活性与对照处理无显著性差异。前人研究表明, 在清除各种生理代谢产生的 H_2O_2 过程中, 与 CAT 相比, APX 虽然对 H_2O_2 的亲合力更强, 但是其对 H_2O_2 的清除需要以 ASA 作为底物, 因此, APX 对 H_2O_2 的清除效率与植物细胞的氧化还原状态密切相关[12]。Mhamdi et al (2010)的研究也表明, 在清除各种细胞器(如叶绿体和过氧化物酶体)中的 H_2O_2 时, CAT 的效率要明显高于 APX, 且清除过程不需要抗氧化底物[30]。在本研究中, 2个绿豆品种 CAT 活性出现峰值与 H_2O_2 含量出现峰值时的高压静电场处理强度是一致的, 而 APX 活性在不同强度高压正静电场处理时与对照处理相比均无显著性差异, 表明在不同强度高压正静电场处理时, 2个绿豆品种中 H_2O_2 的清除可能主要由

CAT 调控, 而与 APX 酶活性无关, 其清除 H_2O_2 时的抗氧化底物 ASA 在不同强度高压正静电场处理时与对照处理相比均无显著性差异也间接证明了这一点。

5. 结论

1) 同一强度(3 kV/m)高压正静电场处理对 2 个绿豆品种的发芽率、简化活力指数、芽长和根长均具有明显的促进作用, 相同强度的高压负电场对简化活力指数和芽长的生物学效应则刚好相反。

2) 从发芽势和发芽率来看, 普通绿豆的最佳高压静电场处理强度为 4 kV/m, 高原小绿豆的最佳处理强度为 4 kV/m 和 6 kV/m。

3) 不同强度高压正静电场处理对 2 个绿豆品种种子的抗氧化代谢均有调控作用, 小于 12 kV/m 的高压正静电场处理的抗氧化代谢强于对照, 12 kV/m 和 24 kV/m 高压正静电场处理的抗氧化代谢则弱于对照。

4) 2 个绿豆品种种子萌发过程中的 SOD 活性和 O_2^- 含量出现峰值的高压正静电场处理强度均为 4 kV/m, 小于 12 kV/m 高压正静电场处理时 SOD 活性的提高主要源于 O_2^- 的激活而非合成的增加。

5) 2 个绿豆品种种子萌发时抗氧化底物 ASA 对不同强度高压正静电场处理表现不敏感, 其 H_2O_2 的清除可能主要由 CAT 调控, 而与 APX 无关。

基金项目

国家自然科学基金(32060428); 江西省自然科学基金(20224BAB205020)。

参考文献

- [1] 毛家旺, 杨艳华, 陈克平, 等. 植物激素与 microRNA 调控种子大小和发育的分子机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2021, 57(2): 274-292.
- [2] 张钰钦, 杨之帆, 李越, 等. 外源海藻糖浸种对低温胁迫油菜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(2): 376-384.
- [3] 朱泯亦, 曹栋栋, 王利, 等. 赶粉后不同时期喷施外源激素对杂交水稻 II 优 7954 种子活力和产量的影响[J]. 浙江农业科学, 2020, 61(3): 492-497.
- [4] 魏晓梅, 吴丽芳, 张龄丹, 等. 植物生长调节剂对玉米及水稻种子活力的影响[J]. 作物研究, 2017, 31(6): 653-658.
- [5] 张秀玲. 不同盐分胁迫对野生大豆种子发芽的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(3): 461-466.
- [6] 黄洪云, 鲍秀珍, 韩哲. 高压静电场对番茄种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 种子, 2019, 38(1): 104-106.
- [7] 武翠卿, 武新慧, 崔清亮, 等. 高压脉冲电场对高粱种子萌发特性影响研究[J]. 农机化研究, 2021, 43(1): 138-145.
- [8] 李雪梅, 刘兴发, 张建功, 等. 高压静电场胁迫对苦瓜生理代谢及主要害虫与天敌种群的影响[J]. 应用昆虫学报, 2021, 58(1): 66-73.
- [9] 白亚乡, 胡玉才. 高压静电场对农作物种子生物学效应原发机制的探讨[J]. 农业工程学报, 2003, 19(2): 49-51.
- [10] 刁岗, 刘锴, 徐永奎, 等. 极低频脉冲电场与高压静电场对作物种子萌发影响的差异[J]. 农业工程学报, 2013, 29(1): 265-271.
- [11] Dan, Z., Lü, H., Chu, S., et al. (2017) The Genetic Architecture of Water-Soluble Protein Content and Its Genetic Relationship to Total Protein Content in Soybean. *Scientific Reports*, 7, Article No. 5053. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04685-7>
- [12] Li, Z.W., Wang, F.B., Lei, B.T., et al. (2014) Genotypic-Dependent Alteration in Transcriptional Expression of Various Cat Isoenzyme Genes in *esl* Mutant Rice and Its Relation to H_2O_2 -Induced Leaf Senescence. *Plant Growth Regulation*, 73, 237-248. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9884-6>
- [13] Hui, Z., Tian, F.X., Wang, G.K., et al. (2012) The Antioxidative Defense System Is Involved in the Delayed Senescence in a Wheat Mutant *tasg1*. *Plant Cell Reports*, 31, 1073-1084. <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1226-z>

- [14] Li, Z., Su, D., Lei, B., *et al.* (2015) Transcriptional Profile of Genes Involved in Ascorbate Glutathione Cycle in Senescing Leaves for an Early Senescence Leaf (*esl*) Rice Mutant. *Journal of Plant Physiology*, **176**, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.09.020>
- [15] Cakmak, I. and Marschner, H. (1992) Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase, and Glutathione Reductase in Bean Leaves. *Plant Physiology*, **98**, 1222-1227. <https://doi.org/10.1104/pp.98.4.1222>
- [16] Scebbba, F., Sebastiani, L. and Vitagliano, C. (2001) Activities of Antioxidant Enzymes during Senescence of *Prunus armeniaca* Leaves. *Biologia Plantarum*, **44**, 41-46. <https://doi.org/10.1023/A:1017962102950>
- [17] Su, L.Q., Lan, Q., Pritchard, H.W., *et al.* (2016) Reactive Oxygen Species Induced by Cold Stratification Promote Germination of *Hedysarum scoparium* Seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, **109**, 406-415. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.10.025>
- [18] Li, W., Chen, B., Chen, Z., *et al.* (2017) Reactive Oxygen Species Generated by NADPH Oxidases Promote Radicle Protrusion and Root Elongation during Rice Seed Germination. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, Article No. 110. <https://doi.org/10.3390/ijms18010110>
- [19] Biju, S., Fuentes, S. and Gupta, D. (2017) Silicon Improves Seed Germination and Alleviates Drought Stress in Lentil Crops by Regulating Osmolytes, Hydrolytic Enzymes and Antioxidant Defense System. *Plant Physiology Biochemistry*, **119**, 250-264. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.09.001>
- [20] 包斯琴高娃, 马占新, 杨体强. 电场对作物种子影响有效性的综合评价方法[J]. 农业工程学报, 2008, 24(3): 25-30.
- [21] 李美清, 吴沿友, 李青林. 高压静电场对水培番茄生理指标与产量的影响[J]. 农业机械学报, 2015, 46(11): 145-150.
- [22] 李亚娇, 郭九峰, 王淑研, 等. 负高压静电场对甘草种子萌发的影响[J]. 种子, 2015, 34(11): 19-22.
- [23] 王清元, 卢贵忠, 赵玉清. 高压静电场对水稻种子萌发的试验研究[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(1): 147-150.
- [24] 甘平, 胡国虎, 陈宏. 高压静电场影响小白鼠体重增长的研究[J]. 生物物理学报, 1997, 13(4): 705-707.
- [25] Diaz-Vivancos, P., Barba-Espín, G. and Hernández, J.A. (2013) Elucidating Hormonal/ROS Networks during Seed Germination: Insights and Perspectives. *Plant Cell Reports*, **32**, 1491-1502. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1473-7>
- [26] Luo, X., Dai, Y., Zheng, C., *et al.* (2020) The ABI4-RbohD/VTC2 Regulatory Module Promotes Reactive Oxygen Species (ROS) Accumulation to Decrease Seed Germination under Salinity Stress. *New Phytologist*, **229**, 950-962. <https://doi.org/10.1111/nph.16921>
- [27] Zhou, L., Ye, Y., Zhao, Q., *et al.* (2018) Suppression of ROS Generation Mediated by Higher InsP3 Level Is Critical for the Delay of Seed Germination in *lpa* Rice. *Plant Growth Regulation*, **85**, 411-424. <https://doi.org/10.1007/s10725-018-0402-8>
- [28] Wang, G., Huang, J., Gao, W., *et al.* (2009) The Effect of High-Voltage Electrostatic Field (HVEF) on Aged Rice (*Oryza sativa* L.) Seeds Vigor and Lipid Peroxidation of Seedlings. *Journal of Electrostatics*, **67**, 759-764. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2009.05.004>
- [29] 朱诚, 房正浓, 曾广文. 高压静电场处理对老化黄瓜种子脂质过氧化的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2000, 26(2): 127-130.
- [30] Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., *et al.* (2010) Catalase Function in Plants: A Focus on Arabidopsis Mutants as Stress-Mimic Models. *Journal of Experimental Botany*, **61**, 4197-4220. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq282>