

## 过氧化氢浸种对大豆种子萌发的生理生化效应

何士敏<sup>1</sup>, 汪建华<sup>1</sup>, 白珍明<sup>2</sup>, 秦家顺<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>长江师范学院生命科学系, 重庆涪陵 408003; <sup>2</sup>重庆市巴南区鱼洞中学, 重庆 401320)

**摘要:**为探明过氧化氢浸种对大豆种子萌发的影响, 测定了过氧化氢浸种的大豆种子萌发期 POD、SOD、PPO 酶活性, 电解质外渗率和种子发芽情况, 旨在探讨提高种子活力的途径。结果表明, 过氧化氢浸种可以提高大豆种子的活力和相关酶的活性。0.1% 过氧化氢处理明显提高种子发芽率、活力指数和 POD、SOD 活性; 0.01% 处理明显提高种子的电解质外渗率和 PPO 活性。

**关键词:**大豆; 过氧化氢; 活力指数; 电解质外渗率; 酶活性

## Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Seed Soaking on Physiological and Biochemical Characters of Soybean Germinating

HE Shi-min<sup>1</sup>, WANG Jian-hua<sup>1</sup>, BAI Zhen-ming<sup>2</sup>, and QIN Jia-shun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Life Science, Changjiang Teacher's College, Fuling 408003, Chongqing; <sup>2</sup>Yudong Middle school of Banan District of Chongqing Municipality, Chongqing 401320, China)

**Abstract:** To elucidate the effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seeds soaking on soybean seeds germinating, This paper tested peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) and superoxide dismutase (SOD) activity of soybean seeds soaked with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> through colorimetric and oxidize-self method. At the same time tested electrolyte oozing rate and seeds germinating situation. The results showed that seeds soaked with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> could increase seeds vigour and relative enzymatic activity obviously. The treatment of 0.1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> could increase germinating rate and vigor index and POD, SOD activity. The treatment of 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> could increase the electrolyte oozing rate and polyphenol oxidase activity of seeds. Therefore, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of proper concentration could raise soybean seeds activity and electrolyte oozing rate and relative enzymatic activity.

**Key words:** Soybean; Hydrogen peroxide; Vigor index; Electrolyte oozing rate; Enzymatic activity

过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)是一种活性氧, 是细胞有氧代谢的产物, 不仅具有损伤生物大分子产生细胞毒害作用, 且具有重要的生理功能。诸多研究证明, 外源低浓度过氧化氢(10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>)处理可引起细胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度增加, 启动钙信号系统。另外, 过氧化氢作为植物对外界环境胁迫反应的调节因子, 可选择诱导许多相关基因的表达, 以提高其自身的免疫能力, 并促进代谢(吴旭红等, 2002; 苗雨晨, 2001)。过氧化氢作为种子萌发促进剂, 因价格低廉、方便实用在科研和农业生产上得到应用(徐是雄等, 1987; 种子工作手册编写组, 1977)。关于过氧化氢对大豆种子萌发影响的文章报导甚少。本文通过研究过氧化氢浸种对大豆种子萌发的生理生化效应, 探讨提高大豆种子活力的途径, 为大豆农业生

产实践提供参考依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

供试大豆: 合丰 25、辽豆 13、沈农 7 号。由重庆涪陵何亚种子经营部供种。

#### 1.2 方法

1.2.1 种子萌发试验 取干净的培养皿, 分组编号, 在培养皿中放入大豆种子, 每皿 50 粒(5 次重复)。以蒸馏水为对照, 分别用 0.01%、0.1%、1%、3% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液浸泡处理 12 h。将浸后的种子洗净, 置于经高压灭菌、垫有二层湿润纱布的培养皿中, 并加入适量蒸馏水, 在 25℃ 光照下进行萌发试验, 每天记载发芽种子数, 并用蒸馏水清洗一次种

收稿日期(Received): 2007-02-25; 接受日期(Accepted): 2007-11-08

基金项目: 长江师范学院重点实验室资助项目

作者简介: 何士敏(1955-), 女, 教授, 研究方向为生物化学与细胞生物学。E-mail: heshimin5589@sina.com

子。以供试种子个数、逐日实际发芽数和平均苗长(单位:cm),计算种子的发芽率、发芽指数、发芽率高峰值和活力指数(郑蔚虹,2003)。

发芽率 = 发芽种子数 ÷ 种子总数

发芽指数 =  $\sum G_t/D_t$  ( $G_t$  为  $t$  时间内的发芽数,  $D_t$  为相应的发芽天数)

活力指数 = 平均苗长 × 发芽指数

1.2.2 电解质外渗率的测定 参照张志良(2003)的方法。

1.2.3 过氧化物酶(POD)活性测定 参照张志良(2003)的方法,略有改动。

1.2.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 参照俞建瑛等(2005)的方法,略有改动。

1.2.5 多酚氧化酶(PPO)活性测定 参照李敏等(2005)的方法,略有改动。粗酶液的提取:称取处理后的种子萌发芽 0.2 g,加 pH 7.6 磷酸缓冲液 10 mL,在研钵中冰浴研磨成匀浆转入离心管,以  $4000 \text{ r min}^{-1}$  离心 15 min,取其上清液即为粗酶液。PPO 活性测定:取两只光径 1 cm 的比色杯,于一只中加入 pH 7.6 磷酸缓冲液 1 mL,  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  邻苯二酚溶液 1 mL,作为校零对照。另一只中加入 pH 7.6 磷酸缓冲液 1 mL,  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  邻苯二酚溶液 1 mL,上述酶液 0.5 mL,用 U-1800 型紫外可见分光光度计(日立公司)测定  $OD_{410}$  值,每 5 s 记录一次。以每分钟引起吸光度改变 0.001 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度过氧化氢对大豆种子萌发的影响

从图 1 可以看出,随着过氧化氢浓度的不断增加,种子发芽率先升高后降低,0.01%~0.1% 浓度的过氧化氢处理种子,可以使种子的发芽率升高,当浓度为 0.1% 时,发芽率达到最高值;0.1% 以上浓度的过氧化氢明显抑制种子的萌发,降低种子的发芽率。经不同浓度过氧化氢浸种处理后,合丰 25、沈农 7 号和辽豆 13 的发芽率最大增幅分别为 8%、18% 和 26%。表明过氧化氢浸种对提高辽豆 13 的发芽率效果最佳。不同浓度过氧化氢对大豆种子发芽指数的影响与发芽率基本一致(图 2)。

从图 3 和图 4 可以看出,随着过氧化氢浓度的增加,3 个品种的发芽率高峰值和活力指数都是先升高后降低。0.01%~0.1% 浓度的过氧化氢处理种子,可以使种子发芽率高峰值和活力指数升高,当

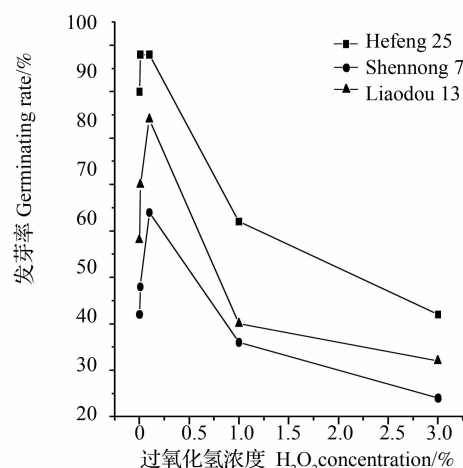


图 1 不同浓度过氧化氢对大豆种子发芽率的影响

Fig. 1 Effect of different  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration on germinating rate

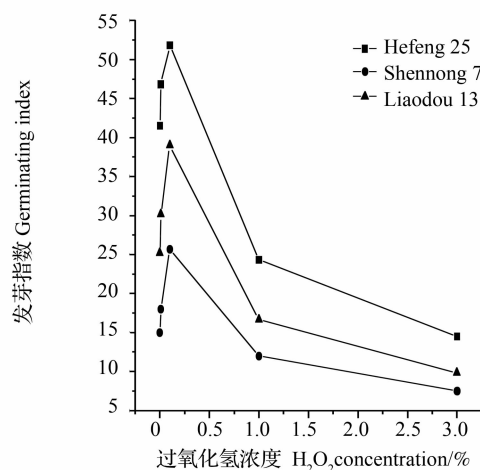


图 2 不同浓度过氧化氢对大豆种子发芽指数的影响

Fig. 2 Effect of different  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration on germinating index

浓度为 0.1% 时,发芽率高峰值和活力指数达到最高;而 0.1% 以上浓度的过氧化氢明显降低种子的发芽率高峰值和活力指数。经不同浓度过氧化氢浸种处理后,合丰 25 号、沈农 7 号和辽豆 13 号的发芽率高峰值和活力指数最大增幅为 6%、10% 和 20%,表明过氧化氢浸种对提高辽豆 13 的发芽率高峰值和活力指数效果最佳。

综上,0.1% 的过氧化氢处理的种子,其发芽率、发芽指数、发芽高峰值以及活力指数均最高,这表明 0.1% 的过氧化氢对提高种子活力具有一定作用;经过过氧化氢浸种之后,辽豆 13 号种子的发芽率、发芽指数、发芽率高峰值和活力指数增幅均最大,说明过

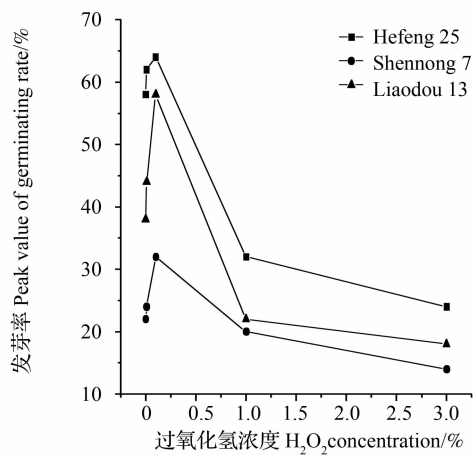


图3 不同浓度过氧化氢对大豆种子发芽率高峰值的影响

Fig. 3 Effect of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on peak value of germinating rate

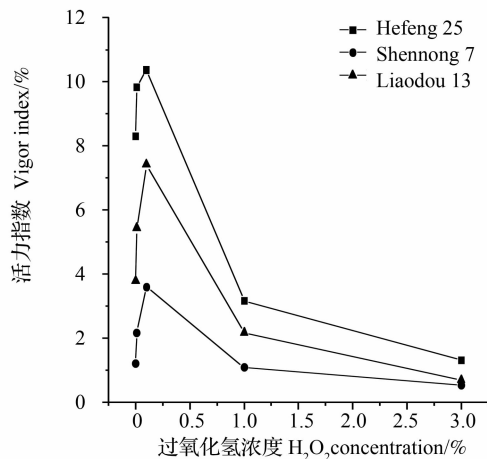


图4 不同浓度过氧化氢对大豆种子活力指数的影响

Fig. 4 Effect of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on vigor index

氧化氢浸种对提高辽豆 13 种子活力效果最好。

## 2.2 不同浓度过氧化氢对大豆种子电解质外渗率的影响

从图 5 可以看出,随着过氧化氢处理的浓度不断升高,3 个品种的种子电解质外渗率逐渐升高,这表明过氧化氢可以腐蚀和软化种皮,增加种皮的通透性,有助于胚芽破皮萌发。但外渗率过高,会使种子体内不应该出来的物质外渗,将不利于种子的萌发。因此,过氧化氢处理种子应选择适当的浓度。

## 2.3 不同浓度过氧化氢对大豆种子萌发期 POD、SOD 和 PPO 活性的影响

从图 6 和图 7 可以看出,随着过氧化氢处理的

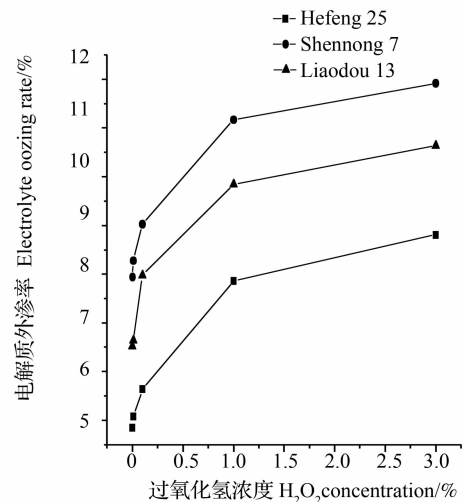


图5 不同浓度过氧化氢对大豆种子电解质外渗率的影响

Fig. 5 Effect of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on electrolyte oozing rate

浓度不断提高,3 个品种萌发的 POD 和 SOD 活性先升高后降低,0.01% ~ 0.1% 的过氧化氢处理种子,可以使种子萌发的 POD 和 SOD 活性升高,当浓度为 0.1% 时,其 POD 和 SOD 活性达到最高;当处理浓度超过 0.1% 时,POD 和 SOD 活性逐渐降低。

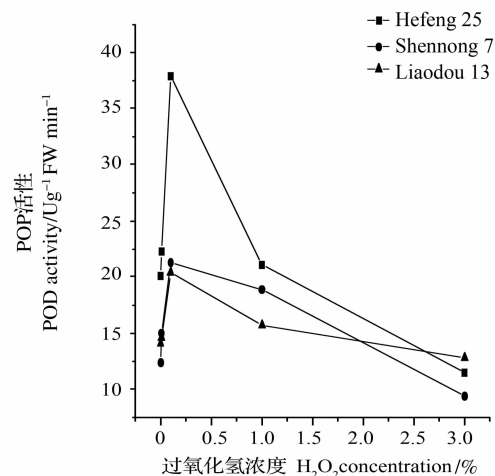


图6 不同浓度过氧化氢对大豆种子萌发期 POD 活性的影响

Fig. 6 Effect of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on POD activity

图 8 表明,随着过氧化氢处理的浓度不断升高,3 个品种的种子萌发的 PPO 活性先升高后降低:0.01% 过氧化氢处理的种子,其 PPO 活性最高;当处理浓度超过 0.01% 时,PPO 活性逐渐降低。

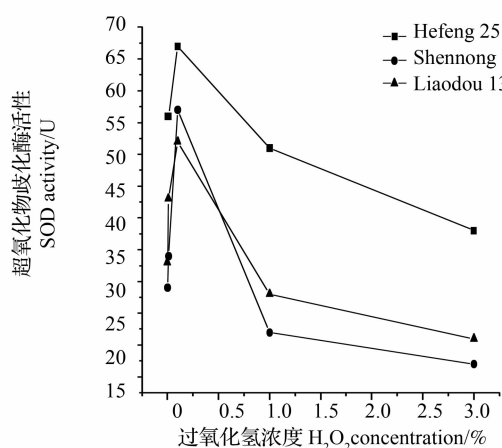


图7 不同浓度过氧化氢对大豆种子萌发期 SOD 活性的影响

Fig. 7 Effect of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on SOD activity

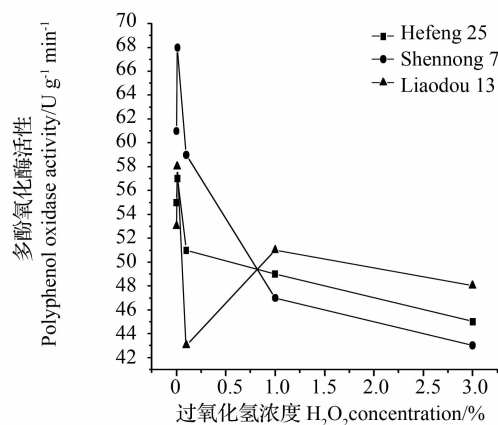


图8 不同浓度过氧化氢对大豆萌发期 PPO 活性的影响

Fig. 8 Effect of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on PPO activity

### 3 讨论

过氧化氢在适当浓度下具有促进作物种子萌发的作用。传统观点认为它可轻度腐蚀种(果)皮,提高其透性,为种子提供充足的氧气而解除休眠(种子工作手册编写组,1977)。但徐是雄等(1987)指出,过氧化氢主要是刺激胚乳物质代谢—磷酸戊糖途径,它对解除种子休眠具有重要作用。通过本文的研究,一定浓度过氧化氢不仅促进种子的萌发,提高其活力指数,还提高种子物质代谢水平上相关酶活性,因此,过氧化氢促进种子萌发与物质代谢密切相关。

适宜浓度过氧化氢浸种处理的大豆种子,其发芽率和过氧化物酶、超氧化物歧化酶、多酚氧化酶活

性明显高于对照处理,表明种子的物质代谢水平由于受到过氧化氢刺激而发生改变。过氧化氢浸种提高种子萌发期的酶活性属于酶含量的调节,但也不排除属于酶活性调节的可能性。过氧化氢作为氧化剂,它可直接调控蛋白激酶及磷酸酯酶的活性,并可以与 DNA 上的反应元件直接相互作用(Sschreck et al.,1991),这样便可以诱导许多相关基因的表达,从而可以增加酶含量,以提高自身的免疫能力以及代谢水平,代谢得到提高和加强,种子中的贮藏物质加快转化为简单的化合物运输到正在生长的幼苗中,提供幼苗生长需要的物质和能源。物质转化率越高对幼苗的生长越有利,并可以提高幼苗抗逆性(张志良,2003),所以外在表现出种子的发芽率、发芽指数、活力指数以及相关酶的活力得到提高。

### 4 结论

0.1% 的过氧化氢处理的种子,其发芽率、发芽指数、发芽峰值以及活力指数均最高,表明 0.1% 的过氧化氢对提高种子活力具有一定作用。3 个品种的种子,经过过氧化氢浸种之后,辽豆 13 种子的发芽率、发芽指数、发芽率高峰值和活力指数增幅均最大,表明过氧化氢浸种对提高辽豆 13 种子活力效果最好。0.01% 过氧化氢处理的种子,其多酚氧化酶活性最高;0.1% 过氧化氢处理的种子,其过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性最高。表明适宜浓度的过氧化氢浸种可以提高种子的相关酶活性。

### References

- Bai B Z, and Tang X J, eds. 1993. Test technology of Plant physiology. Science Technology Press, China, Beijing, pp. 170-183 (白宝璋, 汤学军, 著. 1993. 植物生理测试技术. 中国科技出版社, 中国, 北京, pp. 170-183)
- Guan H. 1980. Effect of Hydrogen peroxide for cotton seed germinating. Journal of Plant Physiology, 5:21-22. (管和. 1980. 过氧化氢对棉籽发芽的效应. 植物生理学通讯, 5:21-22)
- He S M, Yan D B, Li C M, and Wang H C. 2006. Tested on some catalytic nature of polyphenol oxidase from Taro. Journal of Plant physiology, 42(6):1173-1175 (何士敏, 严德兵, 李昌满, 王慧超. 2006 芋中多酚氧化酶的某些催化特性检测. 植物生理学通讯, 42 (6):1173-1175)
- He S M, and Zhang G C. 2000. Effect of magnetized water on ability of soybean seed to resist salt and alkali in the period of budding and seedling. Journal of Science of Teachers College and University, 20 (1):44-46 (何士敏, 张国成. 2000. 磁化水对大豆种子萌发期和幼苗期抗盐碱性质的影响. 高师理科学刊, 20(1):44-46)
- Li M, Liu L, and Guo Y R. 2005. Characteristic study on polyphenol oxi-

- dase of potato. Journal of Gansu Agriculture University, 2: 190-191 (李敏, 刘磊, 郭玉蓉. 2005. 马铃薯多酚氧化酶的特性研究. 甘肃农业大学学报, 2: 190-191)
- Miao Y C. 2001. Hydrogen peroxide is a signal molecule of plant. Magazine of Biology, 18(2): 4-7 (苗雨晨. 2001. 过氧化氢—植物体内的一种信号分子. 生物学杂志, 18(2): 4-7)
- Sscheck R, Rieber P, and Bauuerle P A. 1991. Reactive oxygen intermediates as apparentes as apparently widely used messengers in the activation of the NF- KB transcription factor and HIV- 1. EMBO J, 10: 2247
- Wang A G, Luo G H, and Shao C B. 1983. Study on superoxide dismutase of soybean seed. Journal of Plant Physiology, 9(1): 77-84 (王爱国, 罗广华, 邵从本. 1983. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究. 植物生理学报, 9(1): 77-84)
- Write group of Seed Workbook. 1977. Seed Workbook. People Press, China, Shanghai, pp. 370-371 (种子工作手册编写组, 著. 1977 种子工作手册. 上海人民出版社, 中国, 上海, pp. 370-371)
- Wu X H, Chang Z M, and He S M. 2002. Effects on mung bean rooting of the plumular axis bottom by cutting with hydrogen peroxide. Journal of Science of Teachers' College and University, 22(3): 63-65 (吴旭红, 常志敏, 何士敏. 2002. 过氧化氢对绿豆种子下胚轴插条生根的影响. 高师理科学刊, 22(3): 63-65)
- Xie W H. 1985. Study of cucumber seeds dormancy and Hydrogen peroxide for cucumber germinating effect. Vegetable China, 2: 1-4 (谢文华. 1985. 黄瓜种子休眠及过氧化氢对其萌发效应的研究. 中国蔬菜, 2: 1-4)
- Xu S X, Tang X H, and Fu J R, eds. 1987. Study advance of seed physiology. Zhongshan University Press, China, Guangzhou, pp. 120-122 (徐是雄, 唐锡华, 傅家瑞, 著. 1987. 种子生理研究进展. 中山大学出版社, 中国, 广州, pp. 120-122)
- Xu Z, and Mao W J. 2006. Soybean trade of Brazil and opportunity facing of China. Test and Quarantine of China, 1: 47-50 (徐铮, 毛维军. 2006. 巴西大豆贸易和中国面临的机遇. 中国检验检疫, 1: 47-50)
- Yu J Y, Jiang Y, and Wang S L, eds. 2005. Experimental technology of biochemistry. Chemical Industry Press, China, Beijing, pp. 266-268 (俞建瑛, 蒋宇, 王善利, 著. 2005. 生物化学实验技术. 化学工业出版社, 中国, 北京, pp. 266-268)
- Zhang D X. 1996. Effects of hydrogen peroxide seeds soaking on rice and corn seeds germinating. Journal of Plant Physiology, 32(3): 115-117 (张东向. 1996. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸种对水稻和玉米种子萌发的影响. 植物生理学通讯, 32(3): 115-117)
- Zhang D X, He Y L, and Zheng W H. 1996. Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on wheat seeds activity and some physical characteristic. Journal of Qiqihaer Teachers' University, 16(4): 49-50 (张东向, 赫延龄, 郑蔚虹. 1996. 过氧化氢对小麦种子活力及某些生理特性的影响. 齐齐哈尔师范学院学报, 16(4): 49-50)
- Zhang X L, Li R L, and Shi F C. 2007. Effect of salt stress on seed germination characteristics of *Glycine soja*. Seed, 26(8): 21-23 (张秀玲, 李瑞利, 石福臣. 2007. 盐胁迫对大豆种子萌发特性的影响. 种子, 26(8): 21-23)
- Zhang Z L. 2003. Experimental guiding of plant physiology. Higher Education Press, China, Beijing, pp. 213-214, 123-124, 120 (张志良. 2003. 植物生理学实验指导. 高等教育出版社, 中国, 北京, pp. 213-214, 123-124, 120)
- Zheng W H, and Leng J M. 2003. Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and KMnO<sub>4</sub> seeds soaking on Hippophae seeds germinating and seedling growing. Seed, (6): 21-22 (郑蔚虹, 冷建梅. 2003. 青霉素、过氧化氢和高锰酸钾浸种对沙棘种子萌发及幼苗生长的影响. 种子, (6): 21-22)
- bility of serum lipoproteins and effects of high-density lipoprotein against oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. Journal of Medical Postgraduate, 13(5): 304-307 (许跃龙, 张春妮, 庄一义, 万瑛. 2000. 2 型糖尿病患者血清脂蛋白氧化易感性及高密度脂蛋白抗氧化能力分析. 医学研究生学报, 13(5): 304-307)
- Yoshikoshi M, Yoshiki Y, Okubo K, Seto J, and Sasaki Y. 1996. Prevention of hydrogen peroxide damage by soybean saponins to mouse fibroblasts. Planta Medica, 62(3): 252-255
- bean (*Glycine max* L.). Plant Cell Report, 7: 348-351
- Zhang Z, Guo Z, and Shou H. 2000. Assessment of conditions affecting Agrobacterium-mediated soybean transformation and routine recovery of transgenic soybean. Plant Genetic Engineering, 88-94

(上接 172 页)

- Vedavanam K, Sriyayanta S, O'Reilly J, Raman A, and Wiseman H. 1999. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytochemical extract (SPE). Phytotherapy Research, 13(7): 601-608
- Wang H J and Murphy P A. 1994. Isoflavone contents in commercial soybean foods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42(8): 1666-1673
- Xu Y L, Zhang C N, Zhuang Y Y, and Wan Y. 2000. Oxidative suscepti-

(上接 175 页)

- Trick H N, Dinkins R D, Santarn E R, Di R, Samoylov V, Meurer C A, Walker D R, Parrott W A, Finer J J, and Collins G B. 1997. Recent advances in soybean transformation. Plant Cell Tissue Organ Culture, 3: 9-26
- Wei Z M, and Xu X. H. 1988. Plant regeneration from protoplast of soy-