

介质阻挡放电低温等离子体处理对小麦种子活力及幼苗生理的影响

齐先科, 李 森*, 李彩虹, 渠琛玲*

(河南工业大学 粮食和物资储备学院, 郑州 450001)

摘 要: 为揭示低温等离子体处理对小麦种子活力及幼苗生理特性的影响, 该研究以济麦 22、百农 307 为处理对象, 对其进行不同时长 (0、6、9、12、15 s) 的介质阻挡放电 (dielectric barrier discharge, DBD) 低温等离子体处理, 分析其对小麦种子萌发、幼苗生长、种皮形态结构、幼苗代谢生理及抗氧化性指标的影响。结果表明: 以氩气为气源的 DBD 低温等离子体处理明显提高了小麦种子发芽率及其幼苗根苗长、鲜干重、活力指数; 各处理时长条件下小麦种子吸水率均有所增加, 当处理时间为 9 s 时, 两种小麦种子的吸水率增幅最大, 分别显著增加了 6.4% (济麦 22)、5.9% (百农 307) ($P<0.05$); 小麦种子接触角随处理时间的延长而逐渐减小, 表明其润湿性能逐渐提高; 处理 9 s 时小麦的种皮结构组织轮廓模糊, 呈现明显裂纹; 处理后小麦种子的新生幼苗中光合色素含量、可溶性蛋白含量均得到不同程度的增加; 处理后小麦种子的新生幼苗抗氧化能力有所提高, 当处理时间为 9 s 时, 两种小麦幼苗中的丙二醛含量降幅最大, 分别显著降低了 15.6% (济麦 22)、18.0% (百农 307) ($P<0.05$)。因此, DBD 低温等离子体有效改善了小麦种子活力及其幼苗生理特性, 可作为潜在的种子强化方法用于提高作物生产中的种子质量及促进后续小麦生长。

关键词: 低温等离子体; 小麦; 种子活力; 形态结构; 代谢生理; 抗氧化性

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202307192

中图分类号: S512.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2024)-01-0301-09

齐先科, 李森, 李彩虹, 等. 介质阻挡放电低温等离子体处理对小麦种子活力及幼苗生理的影响[J]. 农业工程学报, 2024, 40(1): 301-309. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202307192 <http://www.tcsae.org>

QI Xianke, LI Miao, LI Caihong, et al. Wheat seed vigor and seedling physiology using dielectric barrier discharge plasmas[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2024, 40(1): 301-309. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202307192 <http://www.tcsae.org>

0 引 言

小麦已有 1 万年的种植历史, 因其富含多种人体所需的营养成分, 如碳水化合物、蛋白质、维生素和矿物质而成为全球文明的基础主食^[1]。据联合国粮食及农业组织 (food and agriculture organization of the united nations, FAO) 统计, 随着城镇化人口的继续增长、家庭收入的逐年增加, 小麦产量的增长率已逐渐低于小麦需求增长率^[2], 部分国家的小麦产量因气候、人为等因素甚至呈现逐年下降的情况, 改善种子质量及作物生长对提高小麦产量具有重要的现实意义^[3]。目前, 提高小麦种子质量及其作物生长的方法主要包括播种前的化学药剂 (如磷酸二氢钾、赤霉素、硼酸等) 浸种、播种后

化肥及农药的田间施用、作物遗传改良等, 但都存在一定的局限性, 如田间化肥的大量使用会给环境带来一定程度的不利影响; 化学药剂与农药本身存在毒性, 若使用不当则会危害人体健康; 通过作物遗传改良的途径培育出一种稳定且高产的小麦品种, 往往需要较长的育种周期^[4]。因此, 从根源上寻求一种提高种子活力、促进作物生长的绿色安全物理技术已成为一大重要研究方向。

近年来, 低温等离子体作为一种新型物理处理技术, 具有耗时短、效率高、无污染、低温节能等优点, 其在食品、生物、农业等领域具有巨大的应用潜力。低温等离子体根据工作压强及实验装置的不同在上述领域应用中常被划分为: 大气压等离子体源 (射流、介质阻挡放电、电晕) 与低气压等离子体源 (直流辉光放电、射频辉光放电)。DBD 因其结构灵活、成本较低、适用性强、处理效率高等优点, 在农业领域备受关注。FEIZOLLAHI 等^[5] 研究发现空气气源的低温等离子体在有效降解大麦籽粒表面的脱氧雪腐镰刀菌烯醇的同时, 对籽粒萌发参数的影响呈时间依赖性, 且对籽粒中蛋白质、 β -葡聚糖含量等品质指标无显著影响; RONGSANGCHAICHAREAN 等^[6] 采用以空气和氩气为混合气源的 DBD 低温等离子体对水稻种子进行处理, 发现处理过程中高能粒子的表面蚀刻及活性氮氧化物的理化反应可实现水稻种子的表面

收稿日期: 2023-07-19 修订日期: 2023-12-22

基金项目: 河南省青年科学基金项目 (232300421265); 河南工业大学高层次人才科研启动基金项目 (2019BS013/31401210); 河南工业大学自科创新基金 (2020ZKCJ14/31420013)

作者简介: 齐先科, 研究方向为粮食储藏技术与品质控制、非热物理技术。Email: qixianke01@163.com

*通信作者: 李森, 博士, 讲师, 研究方向为粮食储藏技术与品质控制、非热物理技术。Email: limiao@haut.edu.cn; 渠琛玲: 博士, 教授, 研究方向为粮食储藏技术与品质控制、粮食代谢组学、粮食干燥技术。Email: quchenling82@163.com

修饰和功能性,进而提高了水稻种子生活力;KITAZAKI等^[7]发现大气 DBD 低温等离子体处理后萝卜种子萌发而成的幼苗总长度较未处理组有所增加,且增幅效果和种子与电极边缘、电极下方的距离有关;JI 等^[8]研究发现空气 DBD 低温等离子体处理后菠菜种子的萌发及生长略高于氮气 DBD 低温等离子体处理;低温等离子体处理通过影响绿豆^[9]、豌豆^[10]的种皮亲水性及蛋白酶、淀粉酶活性而促进了二者种子萌发及幼苗生长。综上所述,DBD 低温等离子体技术相关研究主要体现在农产品真菌毒素降解、促进蔬菜类种子萌发和生长等方面,但其在改善麦类种子质量方面,特别是直接作用于小麦种子以研究其对后续幼苗代谢及抗氧化生理活动的影响鲜有报道。因此,基于国内外关于 DBD 低温等离子体在适当条件下(混合或单一气源、处理时长、与电极间距等)可有效增强蔬菜类种子萌发活力、水解酶活性乃至幼苗长度增加的研究报道,研究该技术对我国大宗粮食作物之一小麦种子活力及幼苗生长的影响,以期为该技术在提高麦类作物生产中种子质量方面的应用提供一定的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试种子:济麦 22(含水率 11.0%),山东农业科学院;百农 307(含水率 11.2%),河南农业科学院;均收获于 2022 年 6 月。

试剂:抗氧化酶(超氧化物歧化酶/过氧化氢酶/过氧化物酶)活性检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)。其他试剂均是国产分析纯。

1.2 仪器与设备

DBD-50 低温等离子体反应器,南京苏曼等离子科技有限公司;H3-18KR 高速离心机,湖南可成仪器设备有限公司;UV-3400S 紫外可见分光光度计,上海凌析仪器有限公司;CTFD-10T-U 真空冷冻干燥机,青岛永和创信电子科技有限公司;Scios 2HiVac 扫描电子显微镜,美国 FEI 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理

DBD 低温等离子体处理装置如图 1 所示,将 10 g 小麦种子均匀地平铺在 DBD-50 低温等离子体反应器中,并以恒定的速率(1 L/min)通入氩气。根据 VELICHKO 等^[11]的研究,在预试验结果的基础上,设置处理参数为:中心频率 10 kHz,平均输入功率 60 W,输出电压 15 kV,占空比 25%,放电距离 8 mm,放电时间为 0、6、9、12、15 s。

将上述样品用于后续种子活力及形态结构的测定,在测定各未处理组(0 s)及处理后样品(6、9、12、15 s)种子活力的同时,剪取培养至第 7 d 的新鲜叶片,液氮冻存后,−80 ℃ 存放,以用于幼苗代谢生理、抗氧化性指标的测定。

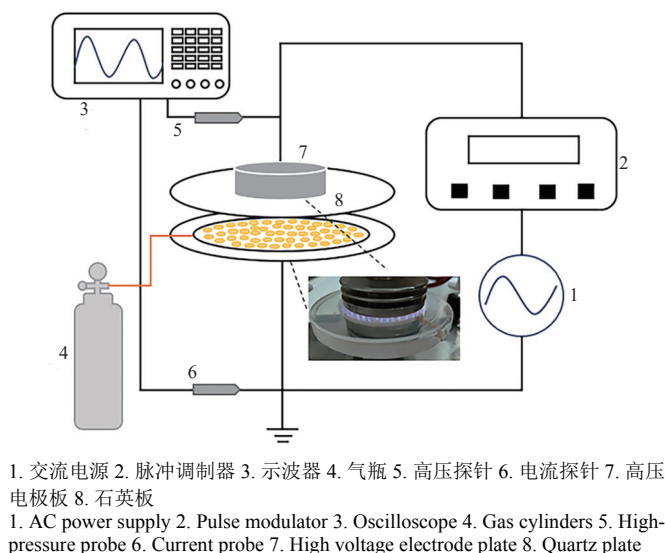


图 1 DBD 低温等离子体处理装置图

Fig.1 DBD low-temperature plasma treatment device diagram

1.3.2 种子活力分析

小麦室内培养参考何鑫^[12]的方法并稍加改进,各样品种子选取 40 粒放置于培养皿中,籽粒间至少保持 0.5 cm 的间距;20 ℃ 避光培养至第 3 d 后,模拟昼夜培养,即 24 ℃、光照培养 14 h,18 ℃、黑暗培养 10 h;定期向培养皿中加入适量的蒸馏水以确保充足的水分环境。

发芽率(germination rate, GR):以芽长超过籽粒长度的一半为标准,每天对发芽数进行记录,计算公式为:

$$G_R = \frac{G_n}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中 G_R 为发芽率; G_n 为第 n 天的发芽数; m 为试验种子总数。

根长与苗长:幼苗培养至第 7 d 时,从各培养皿中随机选取 20 株小麦幼苗(共 10 皿),经蒸馏水冲洗后,采用直尺测量小麦幼苗的根长和苗长,去除各参数的最大值与最小值,并计算平均值。

鲜重与干重:幼苗选取同根、苗长的测定,将 20 株小麦幼苗去除根部与籽粒,经蒸馏水冲洗后,用滤纸将其表面水分吸干,测定其鲜重,随后 105 ℃、杀青 30 min,75 ℃ 烘干至恒重,测定其干重^[8]。

活力指数(vigor index, VI):

$$G_I = \sum \frac{G_n}{D_n} \quad (2)$$

$$V_I = G_I \times S \quad (3)$$

式中 G_I 为发芽指数; G_n 为第 n 天的发芽数; D_n 为发芽天数; V_I 为活力指数; S 为苗长, mm。

吸水率:选取 50 粒大小均一的小麦种子,称重,记为 M_1 ;随后,置于 10 mL 的蒸馏水中,浸泡 8 h 后取出,擦干其表面水分,再次称重,记为 M_2 ^[13]。

$$\text{吸水率}(\%) = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100\% \quad (4)$$

式中 M_1 为小麦种子吸水前的质量, g; M_2 为小麦种子吸水后的质量, g。

1.3.3 种子形态结构观察

接触角: 采用座滴法测定接触角^[14], 具体操作步骤为: 吸取 1.5 μL 的蒸馏水滴加至种子表面, 微距拍摄种皮表面的水滴、成像, 利用 Photoshop 处理图像, 采用 ImageJ 软件将水滴表面上的 7 个非共线的点拟合为圆, 测量接触角。

种皮结构: 选用颗粒饱满的小麦籽粒并切取背部种皮薄片, 经干燥、镀膜后采用扫描电镜对处理前后各样品的种皮微观结构进行观察, 于 1 000、2 000 倍下拍照并分析^[15]。

1.3.4 幼苗代谢生理指标的测定

光合色素含量: 取 0.05 g 冻存的新鲜叶片, 置于研钵中, 加入 1.5 mL 的丙酮和乙醇提取液 (体积比为 2:1), 研磨成匀浆, 转移至 2 mL 离心管中, 50 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴 2 h, 期间摇匀数次后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 rpm 离心 15 min, 取出 0.5 mL 上清液与 6 倍体积的提取溶液 (3 mL) 充分混合, 随后测定 447、645、663 nm 处的吸光值^[16]。光合色素浓度的计算公式为:

$$C_a = 12.21 \times A_{663} - 2.18 \times A_{645} \quad (5)$$

$$C_b = 20.13 \times A_{645} - 5.03 \times A_{663} \quad (6)$$

$$C_{car} = (1\,000 \times A_{447} - 3.27 \times C_a - 104 \times C_b) / 229 \quad (7)$$

$$\text{光合色素含量 (mg/g)} = \frac{C_{\text{色素}} \times V_{\text{总}} \times n}{M \times 1\,000} \quad (8)$$

式中 C_a 、 C_b 、 C_{car} 分别为提取液中叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素的浓度, mg/L; $C_{\text{色素}}$ 为上述式 (5/6/7) 中所计算的色素浓度值 ($C_a/C_b/C_{car}$), mg/L; A_{447} 、 A_{645} 、 A_{663} 分别为提取液于 447、645、663 nm 处的吸光值; $V_{\text{总}}$ 为提取液总体积, mL; n 为提取液稀释倍数; M 为样品鲜重, g。

可溶性蛋白含量: 采用考马斯亮蓝 G-250 法进行可溶性蛋白的测定^[17], 称取 0.05 g 冻存的新鲜叶片, 液氮研磨至粉末状, 迅速转移至 2 mL 离心管中, 随后向管中加入 2 mL 磷酸缓冲液 (pH 值为 7.8), 涡旋混匀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、11 000 rpm 离心 10 min; 吸取上清液, 并将其与蒸馏水、考马斯亮蓝 G-250 溶液按 2:3:30 的比例混匀后, 测定其在 595 nm 处的吸光值。以 100 $\mu\text{g/mL}$ 牛血清蛋白标准液做标准曲线。

可溶性糖含量: 参照 CI 等^[18] 的方法并稍作修改, 称取 0.1 g 冻存的新鲜叶片至研钵中, 加入 2 mL 80% (v/v) 的乙醇, 充分研磨, 并转移至 2 mL 离心管中, 80 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴 40 min, 冷却, 3 000 rpm 离心 10 min; 吸取上清液, 并将其与蒸馏水、蒽酮试剂按 1:19:80 的比例混匀后, 沸水浴 10 min, 冷却至室温, 测定 625 nm 处吸光值。以 100 $\mu\text{g/mL}$ 葡萄糖标准液做标准曲线。

1.3.5 幼苗抗氧化指标的测定

抗氧化酶活性: 参照彭静^[19] 的方法制备抗氧化酶粗酶提取液, 即称取 0.5 g 冻存的新鲜叶片至研钵中, 加入 5 mL 磷酸缓冲液 (pH 值为 7.8), 冰上研磨成匀浆, 迅速转移至 10 mL 离心管中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、8 500 rpm 离心 10 min,

取上清液待测。采用抗氧化酶活性检测系列试剂盒分别测定超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、过氧化物酶 (peroxidases, POD) 活性。

抗坏血酸含量 (ascorbic acid, AsA): 采用钼兰比色法测定小麦幼苗叶片中的抗坏血酸含量^[20], 向装有 0.1 g 冻存叶片的研钵中加入 5 mL 草酸 EDTA 溶液, 研磨成匀浆, 并转移至 10 mL 离心管中, 3 000 rpm、离心 10 min, 取上清液待测; 将上清液、草酸-EDTA 溶液、5% (v/v) 硫酸、偏磷酸-乙酸溶液、5% (v/v) 钼酸铵溶液按体积比 (1:3:0.8:0.4:1.6) 混匀, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴 10 min, 随后测定 760 nm 处吸光值。以 1 mg/mL 的维生素 C 标准液做标准曲线。

丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量: 取 0.1 g 冻存的叶片组织置于研钵中, 加入 3 mL 0.1% (w/v) 三氯乙酸溶液, 研磨匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 rpm 离心 10 min; 吸取上清液, 将其与硫代巴比妥酸溶液按体积比 1:2 混匀, 沸水浴 15 min, 立即冷却, 5 000 rpm 离心 5 min, 测定上清液在 450、532、600 nm 处的吸光值^[21]。

1.4 数据分析

各试验均重复 3 次, 采用 Microsoft Excel 2021 和 IBM SPSS 26 处理数据及显著性分析 ($P < 0.05$), Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 DBD 低温等离子体处理对小麦种子活力的影响

2.1.1 种子发芽率

种子发芽率是衡量种子发芽能力的指标, 更是检测种子质量的重要指标之一^[22]。如图 2 所示, 培养至 2 d 时, 济麦 22 (0 s) 的发芽率为 48.75%, 处理后各样品小麦的发芽率分别增加至 67.50% (6 s)、75.00% (9 s)、68.75% (12 s)、65.00% (15 s); 百农 307 处理后各样品的发芽率均高于未处理组样品 (60.75%), 且处理 9 s 时的种子发芽率最高, 达到 77.50%。培养至 7 d 时, 处理 9 s 的两种小麦的发芽率最高, 均为 98.75%。上述结果表明 DBD 低温等离子体处理在一定程度上促进了小麦种子萌发, 且促进效果存在时间依赖性; 随着处理时间 (12、15 s) 的延长, 两种小麦种子发芽率的增幅有所降低, 该规律与其他学者的研究结果相似^[23-24], 这可能是随处理时间延长所伴随的能量辐射增加所致^[25]。

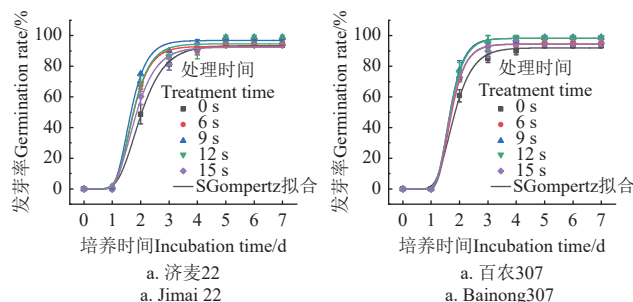


图 2 DBD 低温等离子体处理对小麦种子发芽率的影响

Fig.2 Effects of DBD low-temperature plasma treatment on germination rate of wheat seeds

2.1.2 幼苗生长参数

小麦幼苗的根苗长可直观地呈现幼苗的生长状况，鲜干重则能够体现出幼苗生长过程中的含水量及物质的

累积^[26]，活力指数则为种子发芽速率和生长量的综合体现^[27]。DBD 低温等离子体处理后两种小麦种子萌发而成的幼苗（7 d）生长情况如表 1 所示。

表 1 DBD 低温等离子体处理后小麦种子新生幼苗的生长情况

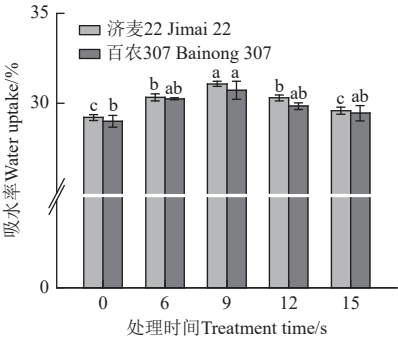
Table 1 Growth condition of newborn seedlings of wheat seeds after DBD low-temperature plasma treatment						
品种 Variety	处理时间 Treatment time/s	根长 Root length/mm	苗长 Shoot length/mm	鲜重 Fresh weight/g	干重 Dry weight/g	活力指数 Vigor index
济麦 22 Jimai 22	0	66.06±1.94 ^a	86.63±0.75 ^a	1.345±0.023 ^b	0.175±0.005 ^b	1 348.04±47.00 ^c
	6	68.81±0.94 ^a	89.31±3.06 ^a	1.374±0.016 ^{ab}	0.179±0.001 ^b	1 541.89±47.44 ^b
	9	67.56±5.31 ^a	92.69±1.81 ^a	1.424±0.020 ^a	0.194±0.004 ^a	1 739.76±85.10 ^a
	12	62.44±0.81 ^a	92.66±2.94 ^a	1.411±0.005 ^a	0.184±0.002 ^{ab}	1 577.57±100.88 ^b
	15	62.40±1.42 ^a	90.31±2.55 ^a	1.406±0.014 ^a	0.180±0.002 ^b	1 479.46±81.08 ^b
百农 307 Bainong 307	0	72.44±1.81 ^a	91.25±1.25 ^a	1.359±0.021 ^b	0.200±0.002 ^b	1 473.08±46.58 ^b
	6	80.75±4.75 ^a	99.63±2.75 ^a	1.461±0.053 ^{ab}	0.212±0.002 ^{ab}	1 724.34±51.93 ^a
	9	79.38±4.25 ^a	99.81±0.69 ^a	1.493±0.021 ^a	0.215±0.005 ^a	1 819.08±70.17 ^a
	12	70.94±1.94 ^a	98.19±3.44 ^a	1.404±0.024 ^{ab}	0.204±0.004 ^{ab}	1 779.65±93.41 ^a
	15	70.02±2.32 ^a	97.66±2.98 ^a	1.394±0.030 ^{ab}	0.201±0.003 ^b	1 694.40±71.13 ^a

注：同列不同上标字母表示有显著性差异（ $P<0.05$ ）。
Note: Different superscript letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

整体而言，处理前后两种小麦在根苗长、鲜干重及活力指数方面的变化规律相似；经处理 6、9 s 的两种小麦的根长均高于各未处理组样品（0 s），且差异不显著（ $P>0.05$ ）；处理后两种小麦样品的苗长均有所增加，且经处理 9 s 时济麦 22、百农 307 的苗长均达到最大值，二者较各未处理组样品（86.63、91.25 mm）分别明显增加至 92.69、99.81 mm；两种小麦幼苗的鲜干重随处理时间的变化趋势与苗长相似，且均处理 9 s 时呈显著性增加（ $P<0.05$ ）；处理后两种小麦的活力指数均较各自未处理组样品（0 s）显著提高，且均处理 9 s 时增幅最大，分别显著提高了 29.1%（济麦 22）、23.5%（百农 307）。以上结果表明 DBD 低温等离子体处理对小麦种子后续的幼苗生长具有积极的正向作用，这是由氙气放电所产生的含 H_2O_2 、NO 在内的活性物质富集在籽粒表面所致^[28]，即上述活性物质经种子吸胀吸收而作为信号分子以调控幼苗生长代谢相关活动^[29,30]；也可能是因 DBD 低温等离子体处理引起幼苗中生长素、细胞分裂素含量的提高所致^[31]。

2.1.3 种子吸水率

浸种过程中的水分吸收是满足种子萌发过程中水分迁移及养分吸收的重要前提^[32]，因此种子吸水率的测定可用于评估种子的萌发潜力。DBD 低温等离子体处理对小麦种子吸水率的影响如图 3 所示，随处理时间的延长，两种小麦种子的吸水率均呈现先增加后下降的趋势；其中济麦 22 的吸水率在处理时长 6、9、12 s 时显著增加，经处理 9 s 后的两种小麦的种子吸水率较各自未处理组样品增幅最大，分别显著增加了 6.4%（济麦 22）、5.9%（百农 307）。结果表明 DBD 低温等离子体在适当处理时长条件下增强了小麦种子吸水率，这可归因于小麦种皮润湿性能的提高及微观结构的改变^[33-34]；处理时间或强度的增加也可促使种子糊粉层中直链淀粉形成更多的 α -1,6 糖苷键及蛋白质疏水氨基酸残基暴露，使种子内部疏水性增加进而降低种子吸水率^[35]。整体上，小麦种子吸水率随处理时长的变化规律与上述种子发芽率、幼苗生长参数的变化情况一致。



注：同一品种中不同字母表示有显著性差异（ $P<0.05$ ）。
Note: Different letters in the same variety indicate significant difference ($P<0.05$).

图 3 DBD 低温等离子体处理对小麦种子吸水率的影响
Fig.3 Effects of DBD low-temperature plasma on water absorption of wheat seeds

2.2 DBD 低温等离子体处理对小麦种子形态结构的影响

2.2.1 种子接触角

接触角是衡量液体在固体材料上润湿性能的重要参数。由图 4 可知，处理前后两种小麦的接触角的变化规律相似，即随处理时间的延长，济麦 22 的种子接触角从 124.9°（0 s）逐渐降至 73.9°（15 s），百农 307 的种子接触角自 112.7°（0 s）逐渐降至 70.5°（15 s），这表明小麦种子表面的润湿性逐渐提高。上述结果可归因于放电过程中所产生的高能粒子蚀刻作用和种子表面活性氮氧化物发生的理化反应，致使种皮孔隙度的增加和种皮表面结构自疏水性转变为亲水性^[14]，这与上述种子吸水率的结果密切相关。

2.2.2 种皮结构

采用扫描电镜对处理 9 s 时的小麦种皮微观结构进行观察，并与未处理组样品进行对比分析。如图 5 所示，各未处理组样品的种皮结构光滑平整，呈现多个边框轮廓清晰的矩形区域，处理后两种小麦的种皮呈现明显裂纹，轮廓结构变得模糊且难以分辨。这主要是由放电等离子体中所产生的高能粒子及能量辐射对种子表面的蚀刻作用所致，进而有利于种子润湿性与吸水率的提高^[30,36]。

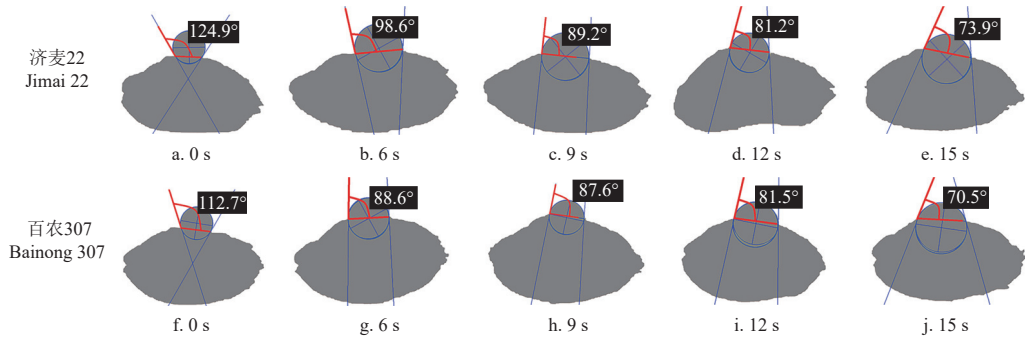


图 4 DBD 等离子体处理对小麦种子接触角的影响
Fig.4 Effects of DBD low-temperature plasma treatment on contact angle of wheat seeds

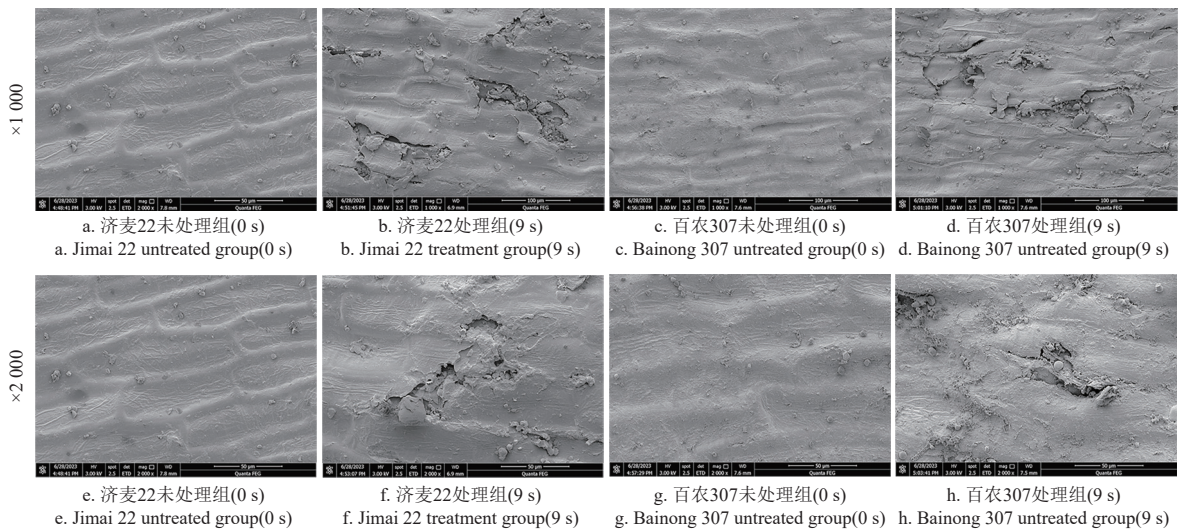


图 5 DBD 等离子体处理对小麦种皮形态结构的影响
Fig.5 Effects of DBD low-temperature plasma treatment on morphological structure of wheat seed coat

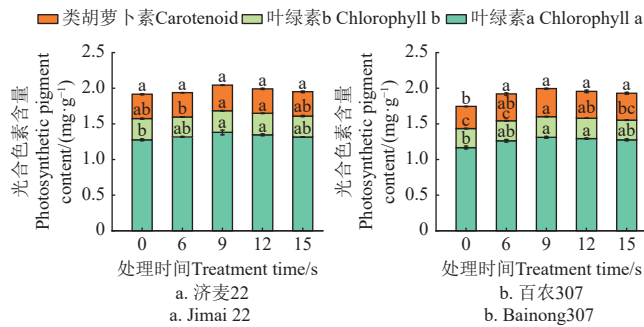
2. 3 DBD 低温等离子体处理前后小麦幼苗代谢生理的变化

2. 3. 1 幼苗光合色素

光合色素是指在光合作用中参与吸收、传递光能或引起原初光化学反应的色素，高等植物中的光合色素则包含叶绿素 a、b 和类胡萝卜素，其中叶绿素能够影响植物的光合速率及代谢活动；类胡萝卜素具有光氧化保护作用，能够应对植物中存在的氧化胁迫^[37-38]。

DBD 低温等离子体处理前后两种小麦的幼苗中光合色素含量的变化情况如图 6 所示，即处理后小麦种子经萌发、生长而成的叶片中总叶绿素含量（叶绿素 a+b）均高于各未处理组样品，且处理 9 s 时的总叶绿素含量的增幅最大，较各未处理组样品分别显著提高了 7.1%（济麦 22）、11.4%（百农 307）。结果表明处理后小麦种子经萌发而成的幼苗的光合作用速率加快，这可能与 DBD 低温等离子体促使氮代谢、光合作用相关的硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性的提高相关^[39]。处理 9、12 s 的济麦 22 样品萌发而成的幼苗中类胡萝卜素含量较未处理组样品有所增加，处理后百农 307 各样品中的类胡萝卜素含量较未处理组样品均显著提高（ $P<0.05$ ），表明 DBD 低温等离子体处理能够提高幼苗生长的胁迫应答能力。综上可知，DBD 低温等离子体处理小麦种子利于提高后续幼苗中的光合色素含量，且影响效果因小麦

品种的不同而有所差异。



注：同一种色素中不同字母表示有显著性差异（ $P<0.05$ ）。
Note: Different letters in the same pigment indicate significant difference ($P<0.05$).

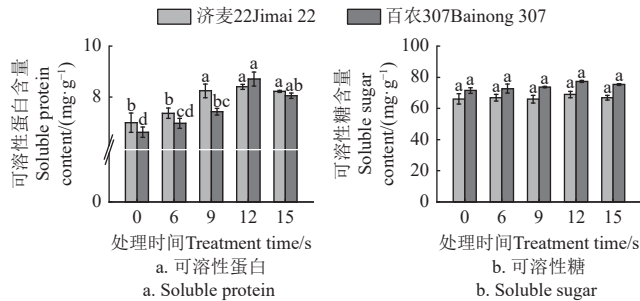
图 6 DBD 低温等离子体处理前后小麦幼苗中光合色素含量的变化

Fig.6 Changes of photosynthetic pigments contents in wheat seedlings before and after DBD low-temperature plasma treatment

2. 3. 2 幼苗可溶性蛋白、可溶性糖

可溶性蛋白是植物中众多代谢生理相关酶的重要组成部分，参与调控植物体内多种稳态平衡^[40]；可溶性糖是植物生长发育及基因表达的重要调节因子，可为植物的生命活动提供能量。由图 7 可知，随种子处理时间的延长，小麦幼苗中可溶性蛋白的含量呈上升趋势，且济麦 22、

百农 307 均于处理 12 s 时达到最大值, 较各未处理组样品 (0 s) 分别显著提高了 20.0%、31.4%; 推测其是由处理后小麦种子萌发而成的幼苗中代谢生理活动增加及相关酶积累所致^[41]。与此同时, 小麦幼苗中可溶性糖含量则随种子处理时间的延长无显著性变化 ($P>0.05$)。



注: 同一品种中不同字母表示有显著性差异 ($P<0.05$)。下同。

Note: Different letters in the same variety indicate significant difference ($P<0.05$). The same as below.

图7 DBD低温等离子体处理前后小麦幼苗中可溶性蛋白及可溶性糖的变化

Fig.7 Changes of soluble protein and soluble sugar contents in wheat seedlings before and after DBD low-temperature plasma treatment

2.4 DBD低温等离子体处理前后小麦幼苗的抗氧化指标的变化

植物中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的清除机制中, SOD、CAT、POD 是最为主要的抗氧化酶,

在维持植物正常生理状态和应对环境胁迫方面起重要作用^[42]; 抗坏血酸 (AsA), 又称维生素 C, 是植物中常见的非酶促抗氧化剂, 在维持植物细胞氧化动态平衡、提高抗逆性方面具有重要作用^[43]。一般而言, 植物中脂质自氧化所产生的 ROS 能够在酶或非酶抗氧化剂的协同作用下维持在较低含量水平, 而过量 ROS 的存在则会引发膜过氧化而产生应激损伤; 膜过氧化产物 MDA, 常作为反映植物脂质过氧化和膜损伤程度的指标^[44]。

DBD低温等离子体处理前后小麦幼苗相关抗氧化性指标的变化如图8所示, 较各未处理组样品而言, 经处理 6、9、12 s 的两种小麦的幼苗中 SOD 活性均有所提高; 二者在处理 9 s 后的幼苗中 CAT 活性的增幅最大, 分别为 1277.4 U/g (济麦 22)、1512.4 U/g (百农 307), 且后者呈显著增加; 二者幼苗中 POD 活性均有所降低, 上述结果中 SOD 和 CAT 活性的提高、POD 活性的降低可能受对应基因的表达上调和下调影响^[45]。两种小麦幼苗中 AsA 含量均有所增加, 且分别处理 9 s (百农 307)、12 s (济麦 22) 时达到最大值。随处理时间的延长, 济麦 22、百农 307 的幼苗中 MDA 含量的变化趋势一致, 较各未处理组样品而言, 均在处理 9 s 时显著下降了 15.6%、18.0%。以上表明, 适当处理时长条件下的 DBD 低温等离子体能够从酶促抗氧化系统和非酶促抗氧化剂方面提高小麦幼苗的抗氧化能力, 从而减轻小麦脂质过氧化和膜损伤程度。

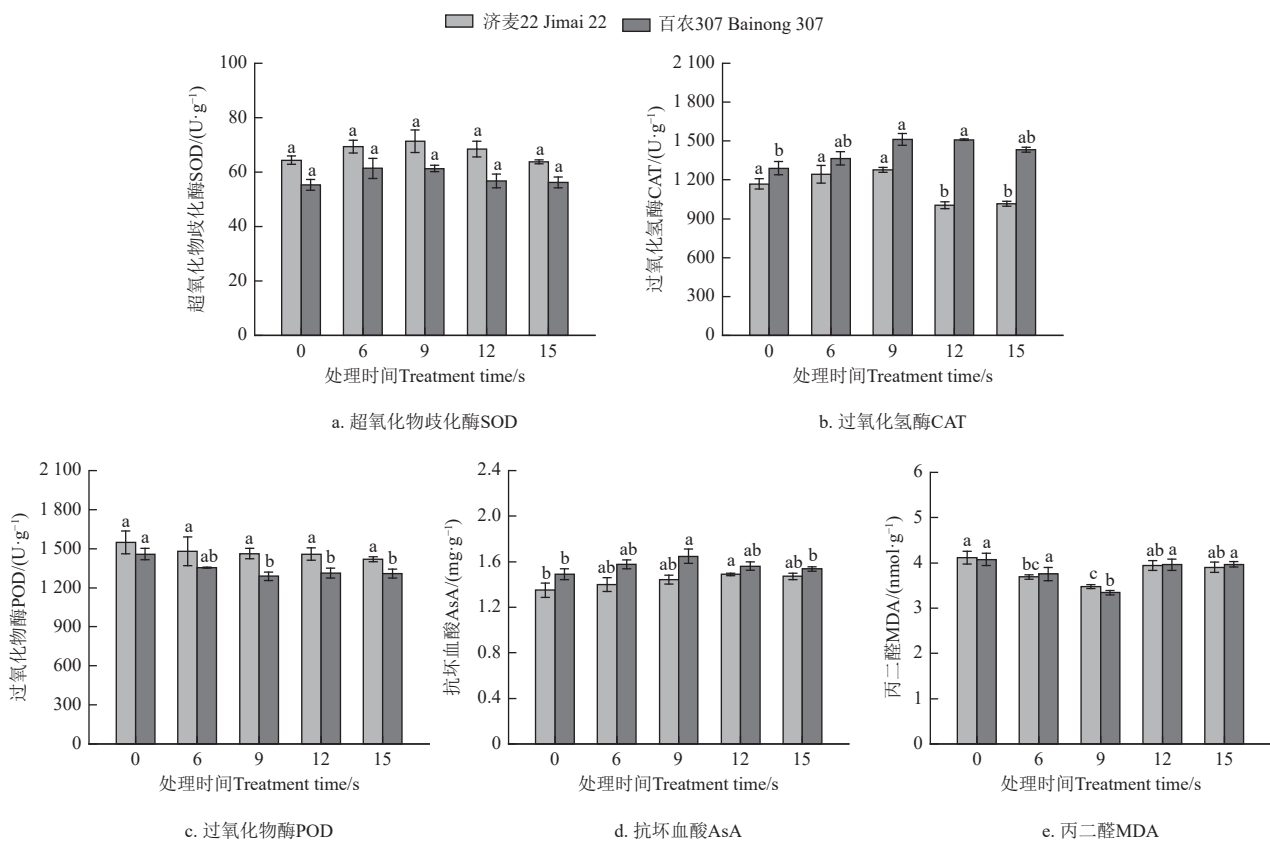


图8 DBD低温等离子体处理前后小麦幼苗的抗氧化指标的变化

Fig.8 Changes of antioxidant indexes in wheat seedlings before and after DBD plasma treatment

3 结 论

本试验通过对国内两种主栽小麦的种子进行不同时间(0、6、9、12、15 s)的氩气 DBD 低温等离子体处理,探究其对小麦种子萌发及幼苗生长、种皮形态结构、幼苗代谢生理及抗氧化性的影响规律,主要结论如下:

1) DBD 低温等离子体处理对小麦发芽率、根苗长、鲜干重、活力指数的影响效果因处理时长不同而异,且处理 9 s 时,两种小麦的种子发芽率、幼苗生长参数达到最佳,与种子吸水率的变化规律相一致,可见相关处理效果具有时间依赖性。

2) 处理后小麦种皮结构组织轮廓模糊,并伴有裂纹,较处理前更有利于提高种子亲水性及吸水能力。

3) 适当处理时长(9 s)条件下的 DBD 低温等离子体显著提高了小麦种子萌发而成的幼苗中光合色素及可溶性蛋白含量($P < 0.05$),表明处理后小麦新生幼苗的光合速率、胁迫应激反应能力、代谢生理活动明显增强。

4) DBD 低温等离子体处理可影响小麦种子后续萌发而成的幼苗中抗氧化酶(SOD、CAT、POD)活性及 AsA 含量,且处理 9 s 时,两种小麦新生幼苗中的 MDA 含量均达到最低值。

综上所述,DBD 低温等离子体在改善小麦种子活力及幼苗生理特性方面具有积极的影响效果,有利于提高幼苗后续生长的速率及稳定性。进一步需考虑处理前后小麦种子的田间试验,以通过评估农艺性状来验证 DBD 低温等离子体提高小麦种子质量的时效性。本研究为该物理技术强化农作物种子质量及促进后续作物生长提供了理论依据。

【参 考 文 献】

- [1] SHEWRY P R. Wheat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(6): 1537-1553.
- [2] VAN D M, MORLEY T, RAU M L, et al. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010-2050[J]. *Nature Food*, 2021, 2(7): 494-501.
- [3] GUO Q, MENG Y R, QU G Z, et al. Improvement of wheat seed vitality by dielectric barrier discharge plasma treatment[J]. *Bioelectromagnetics*, 2018, 39(2): 120-131.
- [4] ZHAO C, PIAO S L, HUANG Y Y, et al. Field warming experiments shed light on the wheat yield response to temperature in China[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13530.
- [5] FEIZOLLAHI E, IQDIAM B, VASANTHAN T, et al. Effects of atmospheric-pressure cold plasma treatment on deoxynivalenol degradation, quality parameters, and germination of barley grains[J]. *Applied Sciences-Basel*, 2020, 10(10): 17.
- [6] RONGSANGCHAICHAREAN T, SRISONPHAN S, ONWIMOL D. Responses of rice seed quality to large-scale atmospheric nonthermal plasmas[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2022, 42(5): 1127-1141.
- [7] KITAZAKI S, SARINONT T, KOGA K, et al. Plasma induced long-term growth enhancement of *Raphanus sativus* L. using combinatorial atmospheric air dielectric barrier discharge plasmas[J]. *Current Applied Physics*, 2014, 14: S149-S153.
- [8] JI S H, CHOI K H, PENGKIT A, et al. Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2016, 605: 117-128.
- [9] SADHU S, THIRUMDAS R, DESHMUKH R R, et al. Influence of cold plasma on the enzymatic activity in germinating mung beans (*Vigna radiate*)[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2017, 78: 97-104.
- [10] SVUBOVA R, KYZEK S, MEDVECKA V, et al. Novel insight at the effect of cold atmospheric pressure plasma on the activity of enzymes essential for the germination of pea (*Pisum sativum* L. cv. Prophet) seeds[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2020, 40(5): 1221-1240.
- [11] VELICHKO I, GORDEEV I, SHELEMIN A, et al. Plasma jet and dielectric barrier discharge treatment of wheat seeds[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2019, 39(4): 913-928.
- [12] 何鑫. 冷等离子体处理对小麦品质的影响[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.
HE Xin. Effect of Cold Plasma Treatment on Wheat Quality[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology. 2022. (in Chinese with English abstract)
- [13] LOS A, ZIUZINA D, BOEHM D, et al. Investigation of mechanisms involved in germination enhancement of wheat (*Triticum aestivum*) by cold plasma: Effects on seed surface chemistry and characteristics[J]. *Plasma Processes and Polymers*, 2019, 16(4): 1800148.
- [14] KRIZ P, OLSAN P, HAVELKA Z, et al. Experimental investigation into the influence of plasma technology on seed surface wettability[J]. *Applied Sciences-Basel*, 2021, 11(21): 9994.
- [15] DAUWE R, ROULARD R, RAMOS M, et al. Etching of the seed cuticle by cold plasma shortens imbibitional leakage in *Linum usitatissimum* L[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 167: 113536.
- [16] 李得孝, 郭员, 海燕, 等. 玉米叶绿素含量测定方法研究[J]. 中国农学通报, 2005: 153-155.
LI Dexiao, GUO Yuan, HAI Yan, et al. Study on methods for determination of chlorophyll content in maize[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005: 153-155. (in Chinese with English abstract)
- [17] 桑婷. TaSCR 基因对于干旱胁迫下小麦生长生理过程的调控[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2022.
SANG Ting. Regulation of TaSCR gene on physiological processes of wheat growth under drought stress[D]. Xian: Northwest A&F University. 2022. (in Chinese with English abstract)
- [18] CI D W, JIANG D, DAI T B, et al. Effects of cadmium on plant growth and physiological traits in contrast wheat recombinant inbred lines differing in cadmium tolerance[J].

- [Chemosphere](#), 2009, 77(11): 1620-1625.
- [19] 彭静. 喷施组合型生长调节剂对不同品种冬小麦抗寒生理、产量及籽粒品质的影响[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2018.
- PENG Jing. Effects of combined growth regulators on cold resistance physiology, yield and grain quality of different varieties of winter wheat[D]. Xian: Northwest A&F University, 2018. (in Chinese with English abstract)
- [20] NISHIKAWA F, KATO M, KAMO T, et al. Enzymatic catabolism of ascorbate in florets of harvested broccoli during senescence[J]. [Journal of the Japanese Society for Horticultural Science](#), 2001, 70(6): 709-715.
- [21] LIU H, ZHANG Y H, YIN H, et al. Alginate oligosaccharides enhanced *Triticum aestivum* L. tolerance to drought stress[J]. [Plant Physiology and Biochemistry](#), 2013, 62: 33-40.
- [22] 刘群, 彭斌, 田长彦, 等. 8 种盐生植物种子萌发特征与 NaCl 盐度的关系探究[J]. [生态学报](#), 2023, 43(17): 7284-7293.
- LIU Qun, PENG Bin, TIAN Changyan, et al. Study on the relationship between seed germination characteristics and NaCl salinity of 8 halophytic plants[J]. [Acta Ecologica Sinica](#), 2023, 43(17): 7284-7293. (in Chinese with English abstract)
- [23] BILLAH M, KARMAKAR S, MINA F B, et al. Investigation of mechanisms involved in seed germination enhancement, enzymatic activity and seedling growth of rice (*Oryza Sativa* L.) using LPDBD (Ar plus Air) plasma[J]. [Archives of Biochemistry and Biophysics](#), 2021, 698: 108726.
- [24] GURAGAIN R P, BANIIYA H B, Pradhan S P, et al. Growth enhancement of radish seed induced by low-temperature argon plasma[J]. [Plasma Chemistry and Plasma Processing](#), 2023, 43(1): 111-137.
- [25] HOLUBOVÁ L, SVUBOVÁ R, SLOVÁKOVÁ L, et al. Cold atmospheric pressure plasma treatment of maize grains-induction of growth, enzyme activities and heat shock proteins[J]. [International Journal of Molecular Sciences](#), 2021, 22(16): 8509.
- [26] 闻婉婷, 李树和, 何倩月, 等. 水培韭菜最优营养液配方筛选[J]. [安徽农学通报](#), 2019, 25(12): 111-113.
- WEN Wanting, LI Shuhe, HE Qian Yue, et al. Screening of optimal nutrient solution for Chinese leek in hydroculture[J]. [Anhui Agricultural Science Bulletin](#), 2019, 25(12): 111-113. (in Chinese with English abstract)
- [27] 胡建芳, 陈建中, 王玉国, 等. 优化高压电场处理提高高粱种子活力[J]. [农业工程学报](#), 2015, 31(12): 253-259.
- HU Jianfang, CHEN Jianzhong, WANG Yuguo, et al. Optimization of condition for improving sorghum seed vigor by high voltage electric field[J]. [Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering \(Transactions of the CSAE\)](#), 2015, 31(12): 253-259. (in Chinese with English abstract)
- [28] NISHIME T M C, WANNICKE N, HORN S, et al. A coaxial dielectric barrier discharge reactor for treatment of winter wheat seeds[J]. [Applied Sciences-Basel](#), 2020, 10(20): 1-19.
- [29] IRANBAKHSH A, GHORANNEVISS M, ARDEBILI Z O, et al. Non-thermal plasma modified growth and physiology in *Triticum aestivum* via generated signaling molecules and UV radiation[J]. [Biologia Plantarum](#), 2017, 61(4): 702-708.
- [30] ARASIMOWICZ M, FLORYSZAK-WIECZOREK J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses[J]. [Plant Science](#), 2007, 172(5): 876-887.
- [31] STOLÁRIK T, HENSELOVÁ M, MARTINKA M, et al. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.) [J]. [Plasma Chemistry and Plasma Processing](#), 2015, 35(4): 659-676.
- [32] 宋平, 杨涛, 王成, 等. 利用低场核磁共振分析水稻种子浸泡过程中的水分变化[J]. [农业工程学报](#), 2015, 31(15): 279-284.
- SONG Ping, YANG Tao, WANG Cheng, et al. Analysis of moisture changes during rice seed soaking process using low-field NMR[J]. [Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering \(Transactions of the CSAE\)](#), 2015, 31(15): 279-284. (in Chinese with English abstract)
- [33] 孟伟然. 放电等离子体对小麦种子萌发的生理生化影响[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2019.
- MENG Yiran. Effects of discharge plasma on the physiological and biochemical effects of wheat seed germination[D]. Xian: Northwest A&F University, 2019. (in Chinese with English abstract)
- [34] DAWOOD N. Effects of air plasma treatment on water uptake of wheat and barley seeds[J]. [Journal of Taibah University for Science](#), 2021, 15(1): 1094-1100.
- [35] 任棚, 吕晓桂, 石磊. 大气压冷等离子体持续和间隔处理对燕麦种子萌发的影响[J]. [中国农业科技导报](#), 2023, 25(7): 215-221.
- REN Peng, LV Xiaogui, SHI Lei. Effects of atmospheric pressure cold plasma on the germination of Oat seeds[J]. [Journal of Agricultural Science and Technology of China](#), 2023, 25(7): 215-221. (in Chinese with English abstract)
- [36] SHAER M E, WELILY H E, ZAKI A, et al. Germination of wheat seeds exposed to cold atmospheric plasma in dry and wet plasma-activated water and mist[J]. [Plasma Medicine](#), 2020, 10(1): 1-13.
- [37] AMORIM D S, AMORIM I S, CHISTE R C, et al. Effects of cold plasma on chlorophylls, carotenoids, anthocyanins, and betalains[J]. [Food Research International](#), 2023, 167: 112593.
- [38] 杨威, 朱建强, 吴启侠, 等. 涝害和高温下棉花苗期的生长生理代谢特征[J]. [农业工程学报](#), 2015, 31(22): 98-104.
- YANG Wei, ZHU Jianqiang, WU Qixia, et al. Growth and physiological metabolism characteristic of cotton seedlings under combination of waterlogging and heat stress[J]. [Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering \(Transactions of the CSAE\)](#), 2015, 31(22): 98-104. (in Chinese with English abstract)
- [39] Roy N C, Hasan M M, Talukder M R, et al. Prospective applications of low frequency glow discharge plasmas on enhanced germination, growth and yield of wheat[J]. [Plasma](#)

- Chemistry and Plasma Processing, 2018, 38(1): 13-28.
- [40] 张静静, 徐正阳, 焦秋娟, 等. 稀土元素铈对锌胁迫下小麦幼苗生长的缓解效应[EB/OL]. 环境科学, 1-13 (2023-05-24) [2023-12-22]. DOI: 10.13227/j.hjks.202304090
- ZHANG Jingjing, XU Zhengyang, JIAO Qiujuan, et al. Mitigative effect of rare earth element cerium on the growth of zinc-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings[EB/OL]. Environmental Science, 1-13(2023-05-24)[2023-12-22]. DOI: 10.13227/j.hjks.202304090. (in Chinese with English abstract)
- [41] SOHAN M S R, HASAN M, HOSSAIN M F, et al. Low-frequency glow discharge (LFGD) plasma treatment enhances maize (*Zea mays* L.) seed germination, agronomic traits, enzymatic activities, and nutritional properties[J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2022, 9(1): 1-17.
- [42] 任怀新, 王冬梅, 王慧, 等. 生物炭对盐碱胁迫下黑麦草和紫花苜蓿光合及抗氧化特征的影响[J]. 农业工程学报, 2021, 37(17): 116-123.
- REN Huaixin, WANG Dongmei, WANG Hui, et al. Effects of biochar on photosynthesis and antioxidant characteristics of ryegrass and alfalfa under saline-alkali stress[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(17): 116-123. (in Chinese with English abstract)
- [43] 陈卫芳, 袁伟玲, 刘志雄, 等. 植物抗坏血酸合成调控研究进展[J]. 植物生理学报, 2023, 59(3): 481-489.
- CHEN Weifang, YUAN Weiling, LIU Zhixiong, et al. Research progress on regulation of ascorbic acid synthesis in plants[J]. Plant Physiology, 2023, 59(3): 481-489. (in Chinese with English abstract)
- [44] LIU D P, NIU J H, YU N S. Optical emission characteristics of medium- to high-pressure N₂ dielectric barrier discharge plasmas during surface modification of polymers[J]. *Journal of Vacuum Science and Technology A*, 2011, 29(6): 61506.
- [45] HOSSAIN M F, SOHAN M S R, HASAN M, et al. Enhancement of seed germination rate and growth of maize (*Zea mays* L.) through LPDBD Ar/Air Plasma [J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022, 22(2): 1778-1791.

Wheat seed vigor and seedling physiology using dielectric barrier discharge plasmas

QI Xianke, LI Miao^{*}, LI Caihong, QU Chenling^{*}

(School of Food and Strategic Reserves, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Wheat production cannot fully meet the ever-increasing growth rate of the demand in recent years. It is of great practical significance to improve the seed quality and crop growth for high wheat yield. Currently, the commonly-used methods include the seed soaking with chemical reagent, field application of fertilizer and pesticide after seeding, and genetic improvement of crops. But all of them have some limitations. Therefore, a green and safe physical technology is required to improve the seed vigor and crop growth in production. Fortunately, dielectric barrier discharge (DBD) low-temperature plasma has been used to promote the germination and growth of vegetable seeds, particularly in the degradation of mycotoxins in agricultural products. However, little has been reported on the role in the quality of wheat seeds. This study aims to reveal the direct effects of low-temperature plasma treatment on the wheat seed vigor and seedling physiology. Jimai 22 and Bainong 307 were treated by DBD low-temperature plasma with argon as gas source. A systematic investigation was made to explore the effects of different treatment times (0, 6, 9, 12, and 15 s) on seed germination and seedling growth, morphological structure of seed coat, metabolic physiology and antioxidant activity of seedlings. The results showed that the DBD low-temperature plasma treatment significantly increased the germination rate of wheat seeds, seedling root length, fresh dry weight and vigor index. The water absorption rate of wheat seeds increased under all treatment time conditions. The water absorption of wheat seeds increased by 6.4% (Jimai 22) and 5.9% (Bainong 307), respectively ($P < 0.05$), when the treatment time was 9 s. The contact angles of wheat seeds decreased gradually with the increase of treatment time, indicating the increasing wettability of wheat seed. Once treated for 9 s, the structure of seed coat was blurred with the outstanding cracks. There was the increase in the content of photosynthetic pigments and soluble proteins in the newborn seedlings of wheat seeds after treatment. The total chlorophyll contents in the seedlings significantly increased by 7.1% (Jimai 22) and 11.4% (Bainong 307) at the treatment time of 9 s, respectively, while the contents of soluble protein in the seedlings increased the most, when the treatment time was 12 s. There was the higher antioxidant capacity of the newborn seedlings of wheat seeds after treatment. The contents of malondialdehyde in the wheat seedlings decreased by 15.6% (Jimai 22) and 18% (Bainong 307), respectively ($P < 0.05$), when the treatment time was 9 s. Therefore, DBD low-temperature plasma was effectively improved the wheat seed vigor and the seedling physiological properties. A potential seed enhancement can be achieved in the seed quality and subsequent wheat growth in crop production.

Keywords: low-temperature plasma; wheat; seed vigor; morphological structure; metabolic physiology; oxidation resistance