

壳寡糖浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发及生理代谢的影响

尹明华^{1,2,3,4}, 肖心怡¹, 方雅轩¹, 万 静¹, 木也赛尔·吐鲁洪¹, 陈 悦¹

(1. 上饶师范学院生命科学学院, 上饶 334001; 2. 上饶农业技术创新研究院, 上饶 334001; 3. 上饶市药食同源植物资源保护与利用重点实验室, 上饶 334001; 4. 上饶市薯芋类作物种质保存与利用重点实验室, 上饶 334001)

摘 要: 江西铅山红芽芋脱毒试管芋一般在1月至2月上旬晴天播种,“倒春寒”等低温胁迫会导致早播的江西铅山红芽芋脱毒试管芋生长缓慢,出苗周期变长,严重时会造成烂种死亡,出苗率降低,影响其产量。为提高播种期江西铅山红芽芋脱毒试管芋抗寒性,该研究利用植物组织培养和植物生理学的方法测定了壳寡糖浸种后低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋的萌发及其相关生理指标。结果表明:200-250 mg/L 壳寡糖浸种可显著促进低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋的萌发。与低温对照(control check, CK)相比,当浸种浓度为200 mg/L时,在内源激素方面,有利于低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中赤霉素(gibberellin, GA₃)、玉米素核苷(ribosylzeatin, ZR)、多胺(polyamines, PA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)的积累,而不利生长素(auxin, IAA)和脱落酸(abscisic acid, ABA)的积累;在抗氧化方面,提高了超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性,降低了丙二醛(malondialdehyde, MDA)和过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)的含量;在渗透调节方面,有利于可溶性糖(soluble sugar, SS)、可溶性蛋白(soluble protein, SP)、脯氨酸(proline, Pro)的积累;在代谢关键酶方面,可提高脂肪酶(lipase, LIP)、蛋白酶(protease, PR)和 α -淀粉酶(α -amylase, α -AMS)活性以及三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量。因此,200 mg/L 壳寡糖可以调控低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋内源植物激素和渗透调节物质含量、抗氧化酶和代谢关键酶活性,促进其在低温下的萌发。

关键词: 壳寡糖; 浸种; 低温; 江西铅山红芽芋; 脱毒试管芋; 萌发; 生理代谢

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202307195

中图分类号: S632.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2024)-01-0320-11

尹明华, 肖心怡, 方雅轩, 等. 壳寡糖浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发及生理代谢的影响[J]. 农业工程学报, 2024, 40(1): 320-330. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202307195 <http://www.tcsae.org>
YIN Minghua, XIAO Xinyi, FANG Yaxuan, et al. Effects of chitosan oligosaccharide soaking on germination and physiological metabolism of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2024, 40(1): 320-330. (in Chinese with English abstract)
doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202307195 <http://www.tcsae.org>

0 引 言

江西铅山红芽芋(*Colocasia esculenta* L. Schoot var. *cormosus* cv. 'Hongyayu')为芋类的一种,别名红眼芋、灰芋、红芋、毛绿芋、红芋仔等,属天南星科,芋属^[1]。江西铅山红芽芋球茎富含多糖、维生素、蛋白质、膳食纤维、淀粉及其他功能成分^[2],具有止渴治秘、消癆散结、抑癌防瘤、增强免疫、降血糖、抗病毒等功效,为食药兼优的上乘佳品^[3]。江西铅山红芽芋一般是通过球茎进行无性繁殖,如此长期种植易造成病毒积累,从而

导致其种性退化、产量下降和品质变劣,影响种植农户的收入,也阻碍了江西铅山红芽芋产业的可持续性发展^[4]。通过培育江西铅山红芽芋脱毒苗可以恢复其种性,增强生长势和抗病性,进而大幅度提升其产量和品质^[5]。但江西铅山红芽芋脱毒苗在应用方面也存在一些问题,如脱毒苗较为细弱,移栽驯化成活率较低,不易长途运输种植和种质异地交流等,给江西铅山红芽芋脱毒苗的规模化生产带来诸多不便^[6]。脱毒试管芋不仅具有脱毒苗的优势,而且逆境抗性更强,易保存,运输方便,便于种质间的交流,可以常年生产,有利于脱毒试管芋的工厂化繁殖^[7]。江西铅山红芽芋脱毒试管芋一般在1月至2月上旬晴天播种,低温会限制其萌发,“倒春寒”等低温胁迫会导致早播的脱毒试管芋生长缓慢,出苗周期变长,严重时会造成红芽芋烂种死亡,出苗率降低,影响其产量^[8]。因此,研究江西铅山红芽芋脱毒试管芋如何抵抗低温胁迫环境,并采取措施提高其抵御低温逆境能力,具有重要理论意义和实用价值。

壳寡糖(chitosan oligosaccharide, COS)是一类由

收稿日期: 2022-07-20 修订日期: 2023-12-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060092, 31860084); 江西省科技厅重点研发计划一般项目(20202BBG73010); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ211729; GJJ201704); 2022年上饶市科技专项项目(饶科发[2023]5号社发类)(2022A008); 上饶市科技局平台载体建设项目(S20230001); 江西省2023年大学生创新创业训练计划项目(S202310416010)

作者简介: 尹明华, 教授, 研究方向为设施园艺植物生物技术, Email: 864035356@qq.com。

甲壳素脱乙酰化的产物壳聚糖降解而获得的水溶性低聚糖。与壳聚糖相比,壳寡糖具有独特、优越的抗逆作用^[9]。目前已有研究报道,壳寡糖在逆境条件下对植物的次生代谢产物有调控作用,从而调节和促进植物的生长发育^[10]。石欣隆等^[11]研究发现,COS可通过调节低温下花生种子发芽初期的激素水平,提高水解酶活性,促进贮藏物质分解,并提高抗氧化酶活性,增加渗透调节物质含量,减缓脂膜过氧化,进而促进种子萌发。张合瑶等^[12]研究发现,GA₃和壳寡糖浸种结合基质施缓释肥可促进云南松苗木生长及其针叶光合色素的积累,0.2 g/L GA₃和1.0 g/L COS浸种结合基质施1.0 kg/m³缓释肥的组合,在110 d时即可培育出苗高达到出圃要求的云南松无蹲苗期壮苗。冶楠等^[13]研究发现,壳寡糖浸种可提高马铃薯微型薯芽组织中内源多胺、生长素、细胞分裂素以及赤霉素的含量,从而显著促进微型薯芽长、芽直径及发芽率的提高。姜若超等^[14]研究发现,GA₃和COS溶液混合浸种可显著促进滇油杉种子场圃的平均发芽率、发芽势、发芽时间和发芽指数。吴莉等^[15]研究发现,低温胁迫前,“赤霞珠”葡萄叶片喷施COS溶液,使低温胁迫后叶片中可溶性糖和脯氨酸的含量提高,降低了细胞的渗透势和冰点,增强葡萄叶片耐受低温的能力。

目前,关于江西铅山红芽芋的研究多集中在大田栽培^[8]、营养成分^[2]、脱毒快繁^[5]、提取工艺^[1]、试管芋诱导^[4]等方面,但壳寡糖浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发及生理代谢的影响尚未见报道。鉴于此,本试验通过COS浸种处理低温下的江西铅山红芽芋脱毒试管芋,以发芽率为指标,筛选有效促进其在低温下萌发的较佳COS浓度,并测定该浓度下江西铅山红芽芋脱毒试管芋低温萌发过程中相关生理指标变化,评价COS浸种处理对其在低温下萌发的影响,以期对江西铅山红芽芋脱毒试管芋的耐冷性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

江西铅山红芽芋脱毒苗,由上饶市薯芋类作物种质保存与利用重点实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 江西铅山红芽芋脱毒试管芋的诱导

参考刘星月等^[4]的方法并稍作修改,选取长势健壮的江西铅山红芽芋脱毒苗,接种于MS固体培养基(+8%蔗糖)上进行脱毒试管芋的诱导。培养条件为昼夜温差为6℃(白昼25℃/夜晚19℃),光照强度1 000~1 500 Lx,光周期8 h/d。

1.2.2 壳寡糖浸种低温处理

参考石欣隆等^[11]和冶楠等^[13]的方法,将壳寡糖[脱乙酰度≥90%,分析纯AR(analytical reagent,)级,购自上海源叶生物科技有限公司]浓度配制为0、50、100、150、200、250、300、350 mg/L。脱毒试管芋诱导3个

月后,从培养容器中取出,置于相对湿度(80±5)%、贮温度4±1℃条件下黑暗贮藏,待休眠期解除后进行壳寡糖浸种处理。选取外观整齐、大小一致、无机械损伤、无萌发出芽的脱毒试管芋,用自来水洗涤,并用0.1%次氯酸钠溶液(v/v)浸泡消毒后,取出晾干。在25±1℃的恒温培养箱中分别用浓度为0(对照组,蒸馏水)、50、100、150、200、250、300、350 mg/L的壳寡糖溶液浸泡脱毒试管芋12 h,浸种完成后,用无菌水清洗数遍直至无残留液。浸种结束后的脱毒试管芋均匀摆放在直径为15 cm垫有湿润滤纸的培养皿中,置于15±1℃恒温培养箱中暗培养15 d,其中0 mg/L对照组CK分别置于常温(25±1℃)和低温(15±1℃)进行培养,标记为CK1和CK2,适时补水,保持湿润。试验设置3次重复,每次重复25个试管芋。

1.2.3 发芽率测定

低温暗培养15 d后,测定脱毒试管芋的发芽率,以脱毒试管芋至少有一个芽长达2 mm定义为发芽,发芽率(germination rate, GR)计算公式为:

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

式中 G_R 为脱毒试管芋的发芽率(%), m 为发芽的脱毒试管芋个数, n 为脱毒试管芋总个数。

1.2.4 生理指标测定

根据1.1.2和1.1.3试验结果,筛选有效促进低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发的较佳COS浓度。依据冶楠等^[13]和刘昌壮^[16]的方法并稍作修改,将处理组(筛选出来的较佳浓度COS浸种)和对照组(CK)置于低温下进行萌发。处理组和对照组(CK)低温萌发的整个过程定义为4个时期:浸种处理后脱毒试管芋未萌芽时期为萌发早期(early germination stage, EGS),脱毒试管芋芽长≤2 mm时期定义为萌发初期(initial germination stage, IGS),脱毒试管芋芽长约2-10 mm定义为萌发期(germination stage, GS),脱毒试管芋芽长≥10 mm时期定义为萌发后期(late germination stage, LGS)。分别切取上述4个时期的萌发芽及芽眼处深度5 mm以内的组织^[16],测定相关生理指标。内源激素(生长素IAA、赤霉素GA₃、玉米素核苷ZR、脱落酸ABA、多胺PA、茉莉酸JA)的含量采用岛津超高效液相色谱仪(LC-30AT)连接SCIEX 5600+质谱仪测定[色谱柱为SHIMADZU InerSustain C18(100 mm×2.1 mm, 2 μm)],流动相为A:乙腈,B:0.1%甲酸水溶液。柱温为35℃,进样器温度为4℃,进样量10 μL;参考郝西等^[17]的方法采用微量法试剂盒测定丙二醛MDA、过氧化氢H₂O₂、可溶性糖SS、可溶性蛋白SP、脯氨酸Pro、三磷酸腺苷ATP含量及超氧化物歧化酶SOD、过氧化物酶POD、过氧化氢酶CAT、脂肪酶LIP、蛋白酶PR和α-淀粉酶的活性。试剂盒由苏州科铭生物技术有限公司提供。所有指标均重复3次。

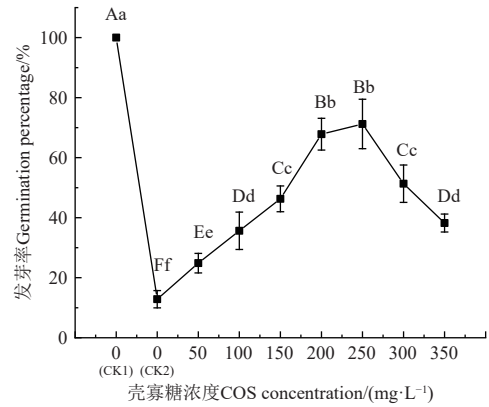
1.2.5 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2010 录入、整理和计算数据,测定结果用平均值±标准差表示;运用 SPSS24.0 数据处理系统进行分析,采用 LSD 法进行数据间的多重比较,并运用 Duncan's 法进行差异显著性检验和 Pearson 相关性分析;采用 Origin 2021 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽发芽率的影响

不同浓度 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽发芽率的影响见图 1。由图 1 可知,浸种浓度为 0 mg/L 时,其在常温下发芽率最高(100%),低温下发芽率最低(12.84%),但经过不同浓度的 COS 处理后,低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽的发芽率显著提高,且随着 COS 浓度的增加,其发芽率也随之显著提高,当 COS 浓度为 200-250 mg/L 时,发芽率达到最高值,且两者浓度之间的发芽率无显著性差异。随着 COS 浓度的继续增加,低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽的发芽率也随之显著降低,当 COS 浓度为 350 mg/L 时,发芽率降为 38.22%,与 100 mg/L COS 浓度浸种的发芽率无显著性差异。因此,200-250 mg/L COS 浸种可显著促进低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽的萌发。



注:大小写字母表示 0.01 和 0.05 水平上的显著性差异 ($P<0.01$, $P<0.05$),下同。

Note: The capital and lowercase letters between different COS concentrations represent significant differences at 0.01 and 0.05 levels ($P<0.01$, $P<0.05$), the same below.

图 1 不同浓度 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽发芽率的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of COS soaking on the germination rate of virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

2.2 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽萌发过程中内源激素含量的影响

COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽萌发过程中内源激素含量的影响见图 2。

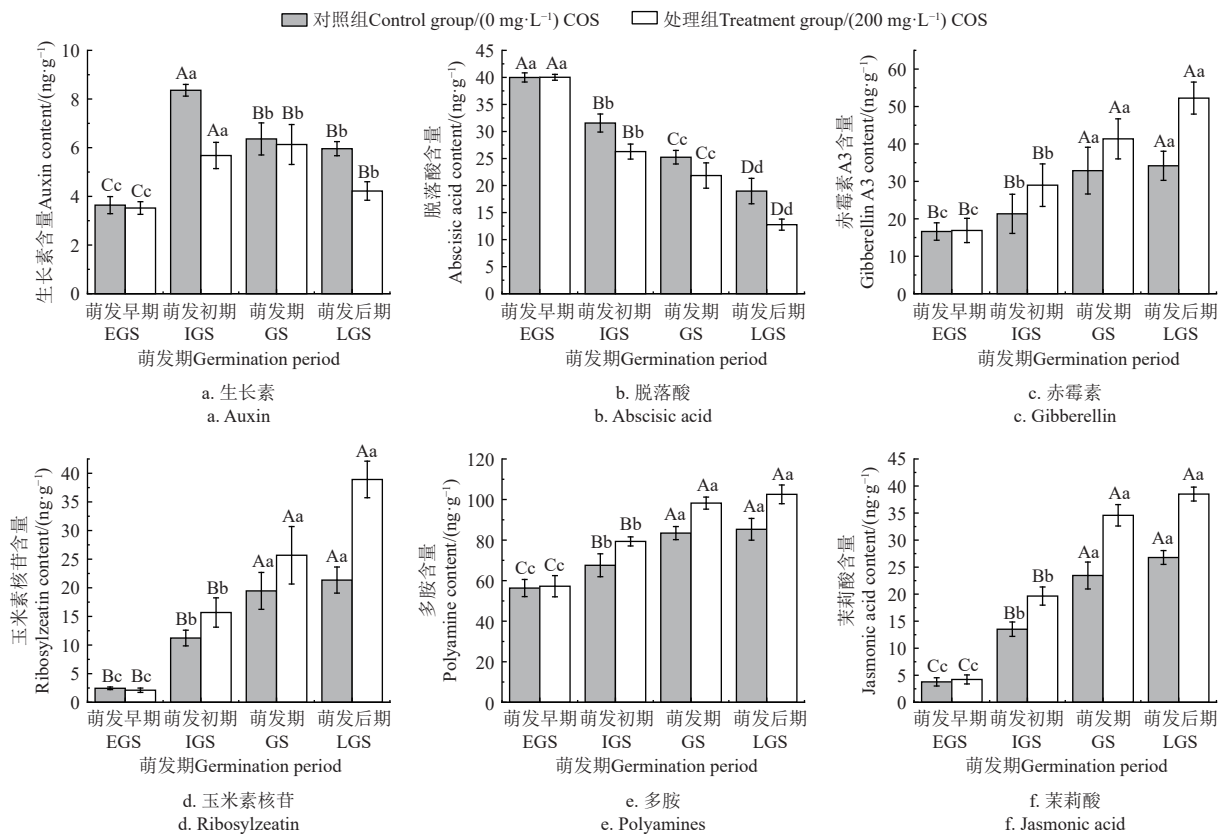


图 2 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芽萌发过程中内源激素含量的影响

Fig.2 Effects of COS seed soaking on endogenous hormone content during the germination process of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

对于生长素含量, 对照组在萌发早期 (EGS) 的生长素含量较低, 在萌发初期 (IGS) 生长素含量显著增加, 达到最高值, 进入萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS), 生长素含量显著下降, 两者无显著性差异; 处理组 (COS 浸种) 在萌发早期 (EGS) 的生长素含量也较低, 进入萌发初期 (IGS) 和萌发期 (GS), 生长素含量显著增加, 但两者生长素含量无显著性差异, 进入萌发后期 (LGS), 生长素含量显著下降 (图 2a); 对于脱落酸含量, 对照组和处理组变化趋势一致, 在萌发早期 (EGS) 的脱落酸含量较高, 进入萌发初期 (IGS)、萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS), 脱落酸含量显著下降, 至萌发后期 (LGS) 达到最低值 (图 2b); 对于赤霉素、玉米素核苷、多胺和茉莉酸含量, 对照组和处理组变化趋势也相一致, 在萌发早期 (EGS) 含量较低, 萌发初期 (IGS) 含量显著增加, 进入萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS), 其含量持续显著增加, 并达到最高值, 两者无显著性差异 (图 2c、2d、2e、2f)。说明 COS 浸种可以提高低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中的生长素、赤霉素、玉米素核苷、多胺和茉莉酸含量, 降低脱落酸含量。由图 2 还可知, 处理组 (COS 浸种) 在萌发初期 (IGS)、萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS) 的生长素和脱落酸含量低于对照组, 而赤霉素、玉米素核苷、多胺和茉莉酸含量高于对照组, 说明 COS 浸种有利于低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中赤霉素、玉米素核苷、多胺和茉莉酸的积累, 而不利于生长素和脱落酸的提高。

2.3 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中过氧化物含量的影响

COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 MDA 和 H_2O_2 含量的影响见图 3。由图 3 可知, 对照组和处理组 (COS 浸种) 在整个萌发期, MDA 和

H_2O_2 含量均显著下降; 与对照组相比, 处理组 (COS 浸种) 在萌发初期 (IGS)、萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS) 的 MDA 和 H_2O_2 含量显著下降, 说明 COS 浸种有利于 MDA 和 H_2O_2 的减少。

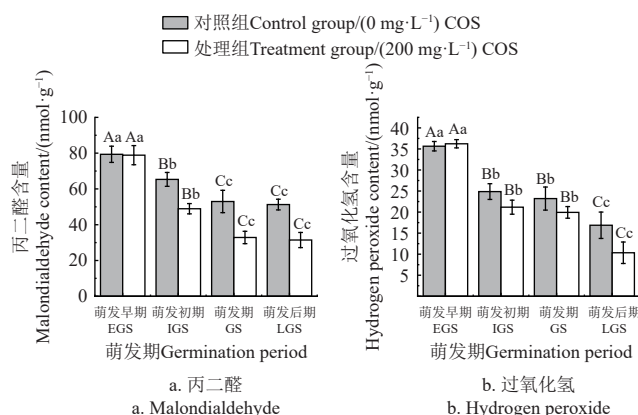


图 3 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 MDA 和 H_2O_2 含量的影响

Fig.3 Effects of COS seed soaking on MDA and H_2O_2 content during the germination process of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

2.4 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中抗氧化酶活性的影响

COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 SOD、POD 和 CAT 活性的影响见图 4。由图 4 可知, 对照组和处理组 (COS 浸种) 在整个萌发期, SOD 和 CAT 活性均显著提高, 而 POD 活性均呈“先升后降”的趋势; 与对照组相比, 处理组 (COS 浸种) 在萌发初期 (IGS)、萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS) 的 SOD、POD 和 CAT 活性显著提高。说明 COS 浸种有利于 SOD 和 CAT 活性的提高, 而 POD 活性“先增大后减小”。

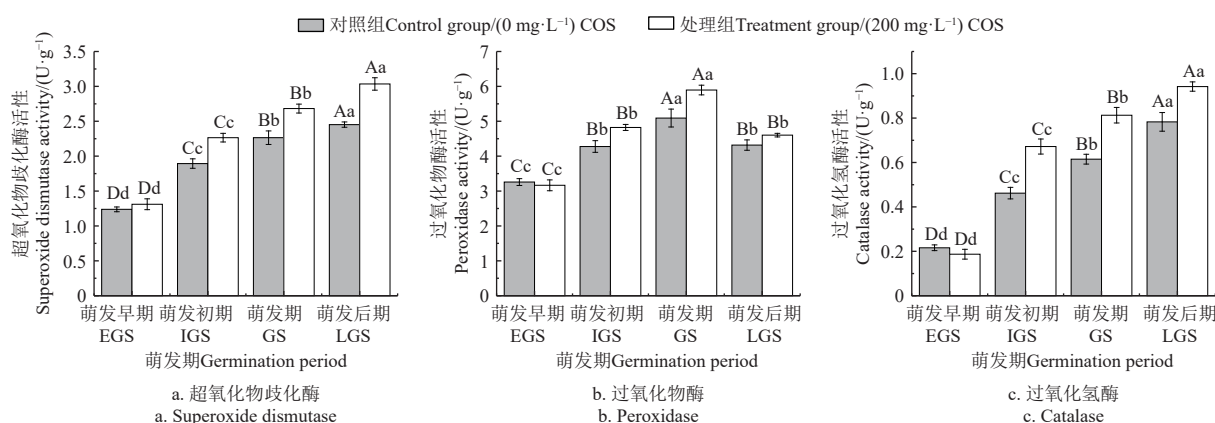


图 4 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Fig.4 Effects of COS seed soaking on SOD, POD and CAT activity during the germination process of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

2.5 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中渗透调节物质含量的影响

COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 SS、SP 和 Pro 含量的影响见图 5。由图 5 可知, 对照组和处理组 (COS 浸种) 在整个萌发期, SS、SP

和 Pro 含量均显著提高; 与对照组相比, 处理组 (COS 浸种) 在萌发初期 (IGS)、萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS) 的 SS、SP 和 Pro 含量显著提高。说明 COS 浸种有利于 SS、SP 和 Pro 的积累。

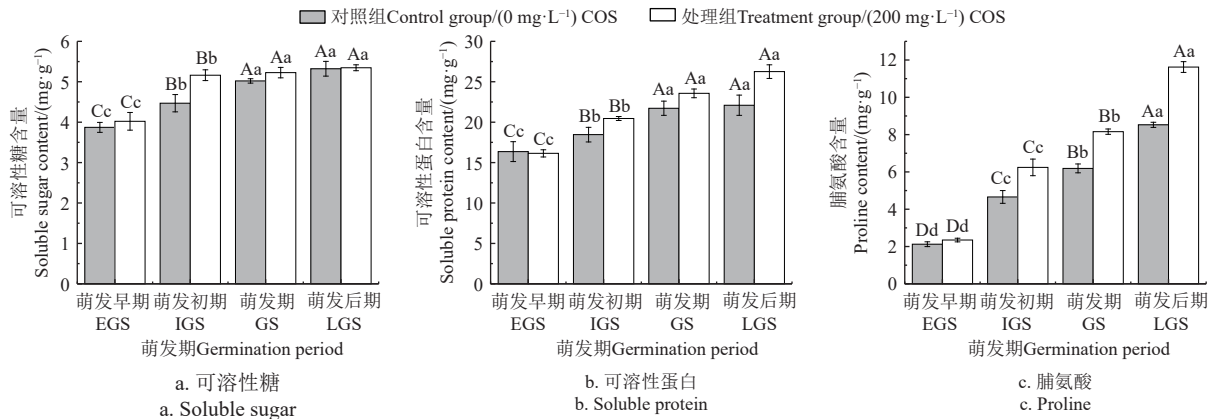


图5 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 SS、SP 和 Pro 含量的影响

Fig.5 Effects of COS seed soaking on SS, SP and Pro content during the germination process of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

2.6 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中代谢关键酶活性的影响

COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中代谢关键酶活性的影响见图 6。

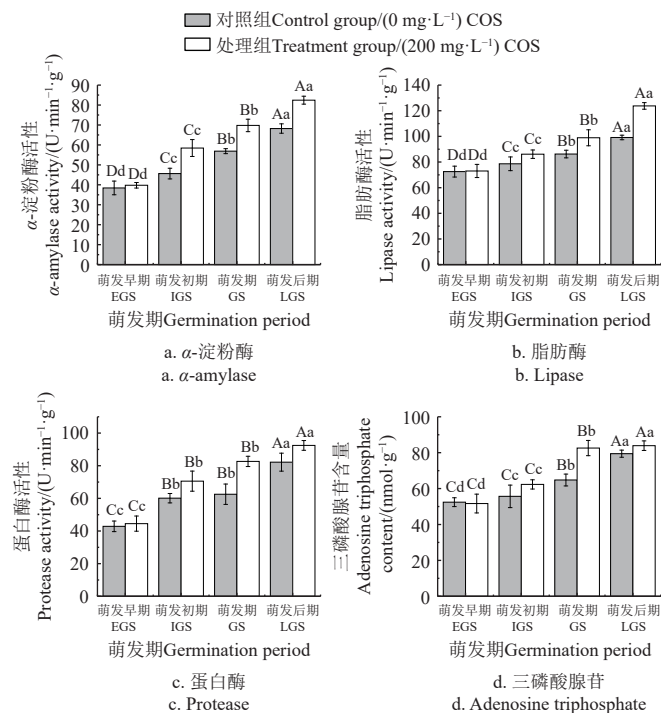


图6 COS 浸种对低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中 α -淀粉酶活性、脂肪酶活性、蛋白酶活性和三磷酸腺苷含量的影响

Fig.6 Effects of COS seed soaking on α -AMS activity, LIP activity, PR activity and ATP content during the germination process of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

由图 6 可知, 对照组和处理组 (COS 浸种) 在整个萌发期, α -AMS、LIP、PR 活性和 ATP 含量均显著提高; 与对照组相比, 处理组 (COS 浸种) 在萌发初期 (IGS)、萌发期 (GS) 和萌发后期 (LGS) 的 α -AMS、LIP、PR 活性和 ATP 含量显著提高。

2.7 COS 浸种后江西铅山红芽芋脱毒试管芋低温下萌发与生理指标的相关性分析

COS 浸种后江西铅山红芽芋脱毒试管芋低温下萌发与生理指标的相关性分析见表 1。由表 1 可知, COS 浸种处理后, 其发芽率与 ABA 含量、JA 含量、POD 活性、ATP 含量均呈极显著正相关关系 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.810、0.763、0.764、0.848; 与 GA_3 含量、PA 含量、SOD 活性、CAT 活性、SP 含量、PR 活性含量呈显著正相关 ($P < 0.05$), 相关系数分别为 0.548、0.583、0.548、0.534、0.552、0.567; 与 MDA 含量呈极显著负相关关系 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.838。说明低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋发芽率的提高与 COS 浸种处理诱导 ABA、 GA_3 、JA、PA、ATP、SP 含量及 POD、SOD、CAT、PR 活性的升高正相关, 因此, 适当浓度的壳寡糖可以调控内源植物激素和渗透调节物质含量、抗氧化酶以及代谢关键酶活性, 以促进低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋的萌发。

3 讨论

3.1 COS 浸种处理影响低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发

江西铅山红芽芋是全国农产品地理标志产品, 铅山县更是绿色食品红芽芋原料生产基地, 红芽芋产业已成为铅山发展农业经济的“两红”支柱产业之一^[8]。红芽芋一般在 1 月至 2 月上旬晴天播种, 种芋出苗需要适宜的温度条件 (25-30 $^{\circ}C$, 一般为 3-4 月), 低温会影响红芽芋种芋出苗, 在 10 $^{\circ}C$ 的时候红芽芋种芋基本不能出苗, 江西铅山红芽芋早熟栽培对温度要求较高, 超过 15 $^{\circ}C$ 种芋才会出苗^[18]。由于江西铅山红芽芋在赣东北地区地膜覆盖栽培, 可提早到 2 月中旬播种, 但此时温度还较低, 极大限制了其在我国铅山县及其周边县市的大面积推广^[5], 采取措施改善其发芽状况, 对进一步扩大江西铅山红芽芋脱毒试管芋种植面积具有重要意义。试管芋萌发阶段是整个生命周期中对温度最为敏感的阶段, 低温不仅影响试管芋的萌发进程, 而且还影响试管芋萌发

表 1 COS 浸种后江西铅山红芽芋脱毒试管芋低温下萌发与生理指标的相关性分析

相关性	发芽率	生长素 IAA	赤霉素 GA3	玉米素核苷 ZR	脱落酸 ABA	多胺 PA	茉莉酸 JA	MDA	丙二醛 MDA	H2O2	过氧化氢酶 SOD	超氧化物歧化酶 CAT	过氧化物酶 POD	过氧化物酶 POD	过氧化氢酶 CAT	可溶性糖 SS	可溶性蛋白 SP	脯氨酸 Pro	α-淀粉酶 α-AMS	脂肪酶 LIP	蛋白酶 PR	ATP
发芽率 GR	1																					
生长素 IAA		1																				
赤霉素 GA3			1																			
玉米素核苷 ZR				1																		
脱落酸 ABA					1																	
多胺 PA						1																
茉莉酸 JA							1															
丙二醛 MDA								1														
过氧化氢 H2O2									1													
超氧化物歧化酶 SOD										1												
过氧化物酶 POD											1											
过氧化物酶 CAT												1										
可溶性糖 SS														1								
可溶性蛋白 SP															1							
脯氨酸 Pro																1						
α-淀粉酶 α-AMS																	1					
脂肪酶 LIP																		1				
蛋白酶 PR																			1			
三磷酸腺苷 ATP																					1	

注：*和**表示 0.01 和 0.05 水平上的差异性。
Note: * and ** indicate differences at the 0.01 and 0.05 levels.

质量。研究表明,添加物对植物生长的影响与添加物的浓度有关,较高浓度的添加物会对植物形成胁迫,抑制植物的生长,而适宜浓度的添加物则会促进植物的生长,最终提高植物的生物量^[19]。例如,促进辣椒种子发芽的最佳 COS 浓度为 100 mg/L^[20],但有效促进马铃薯微型薯块茎萌发的最佳 COS 浓度为 50 mg/L^[13],究其原因,可能是因为作物种类存在差异所致。在本试验中,高浓度 COS 胁迫可能会对试管芋产生毒性,抑制试管芋正常萌发;COS 浓度较低时则无法修复低温逆境下试管芋经受的细胞伤害,同样导致试管芋萌发率较低;COS 浓度适宜时,不但不会对试管芋造成化学毒害,还可修复低温对试管芋造成的逆境伤害,抗逆性较强,破除了试管芋休眠,提高了试管芋的发芽率。试管芋(薯)低温休眠在薯芋类植物中十分常见,是薯芋类植物保护自己抵御不良环境的一种生理响应,添加 COS 等化学试剂是其抗低温胁迫、打破休眠、促进萌发的重要措施。

3.2 COS 浸种处理调控低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋内源激素含量

内源植物激素对植物生长发育与形态建成具有调控作用,与种子萌发、休眠以及植物的环境适应性、抗逆性、胁迫信号传导等相关^[21]。种子萌发是一个复杂的生理信号调控过程,ABA 起到维持种子休眠、抑制种子萌发的作用,而 GA 则起到打破种子休眠、促进种子萌发的作用^[22]。研究表明,250 mg/L COS 浸种可提高花生种子的 GA 含量,降低 ABA 含量,从而促进其发芽^[11]。本试验结果也表明,COS 浸种可以刺激江西铅山红芽芋脱毒试管芋在低温下的 ABA 合成,但增幅不大。同时 COS 浸种还可诱导试管芋 GA₃ 的大量累积,起到拮抗 ABA 的主导作用,随着 GA₃ 的敏感性增加,打破江西铅山红芽芋脱毒试管芋休眠,诱导水解酶合成,水解贮藏的碳水化合物,降解细胞壁^[23],促进其萌发。ABA 作为重要的信号分子不仅能够调控试管芋萌发,还对提高其低温耐性具有重要作用。COS 浸种后,低温下的江西铅山红芽芋脱毒试管芋 ABA 含量表现为“先升后降”的趋势,说明试管芋萌发初期 ABA 增加,用于提高其低温耐性,随着萌发进程 ABA 中含量下降,试管芋内源激素的主导作用由 ABA 向 GA₃ 转化,GA/ABA 升高,破除低温休眠,修复低温伤害,从而促进其萌发。

在种子的萌发过程中,生长素(IAA)一般是对 ABA 的生物合成与信号转导途径进行正调控,而对 GA 的生物合成与信号转导途径进行负调控^[24]。IAA 对植物种子的萌发具有两重性作用,即高浓度的 IAA 抑制种子的萌发,低浓度的 IAA 促进种子的萌发^[25]。本试验结果表明,COS 浸种后的 IAA 水平与萌发率之间具有负相关性,不利于 IAA 的提高,究其原因,可能在低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中内源 IAA 的含量达到了抑制芽生长的较高浓度,但 COS 浸种处理可调控 IAA 处于较低浓度稳态水平,对低温下试管芋和微型薯休眠的解除以及在低温下的萌发具有促进作用,从而调

节低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋的发芽。

种子萌发时,种子内部会发生一系列生理变化,其中 ZR 和 JA 为促进剂,与种子蛋白等储藏物质的分解与合成有关^[26]。COS 浸种可以提高低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中的 ZR 和 JA 含量。ZR 和 JA 可以清除发芽抑制物质,维持试管芋细胞内外离子平衡,保持细胞器正常合成 ZR 和 JA 的 pH 环境,促进 ZR 和 JA 的正常合成,增强 α -淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶活性,调控糖类、脂类和蛋白质代谢,加速试管芋细胞分裂、膨大,从而促进试管芋萌发。

PA 是生物体代谢过程中产生的具有较高生物活性的低分子量脂肪族含氮碱,主要调节植物细胞分裂、胁迫反应、生长发育等生理代谢^[27]。本研究结果也表明,COS 浸种有利于低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发过程中诱导增强抗逆性的多胺积累,而有利于脱落酸的提高,PA 与 ABA 浓度呈显著负相关,可能与 ABA 拮抗,共同调控低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋的萌芽及其芽细胞的抗逆能力。在低温下,江西铅山红芽芋脱毒试管芋多胺含量偏低,COS 浸种可通过提高 PA 的合成以及防止 PA 降解来提高试管芋对低温胁迫的耐受性。同时,COS 浸种还可通过维持较高的 PA 水平和抑制 PA 降解来减少试管芋低温应激的细胞损伤。

3.3 COS 浸种处理调控低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋抗氧化酶促系统

种子萌发受内因(自身遗传和生理特性)和外因(水分、氧气和温度)制约,其中温度是植物种子萌发的主要外因之一^[28]。在低温逆境下,易造成膜脂相变,导致种子体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累,造成氧化胁迫和细胞结构性损伤,从而抑制植物种子的萌发^[29]。ROS 主要包括超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($\cdot OH$)和单线态氧(1O_2)等^[30]。为了使 ROS 维持稳态,种子在萌发过程中形成了高度严格的抗氧化酶促系统,如 SOD、POD、CAT 等。SOD 作为保护酶系统的第一道防线,是主要的活性氧清除酶系,能将毒性较强的超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)歧化为毒性较弱的过氧化氢(H_2O_2),而 CAT 与 POD 协同作用,将 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 ,二者协同运作,使自由基维持在一个较低的水平,以保持活性氧产生和清除之间的平衡,从而维持细胞内氧化还原的平衡,避免膜受到损伤^[31]。研究表明,随着胁迫(低温)时间的增加,有害物质 MDA 和 H_2O_2 含量均会发生明显累积,其中, H_2O_2 的累积特征与抗氧化酶含量变化规律较为一致^[32]。本试验结果表明,COS 浸种会显著提高江西铅山红芽芋脱毒试管芋低温下萌发的抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性,降低 MDA 和 H_2O_2 含量,其中 MDA 含量下降显著,说明试管芋细胞膜质过氧化程度较低,细胞膜尚未受到严重伤害^[33],表明 COS 浸种后,低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋受到的胁迫伤害发生了逆转,抗氧化酶活性增强,MDA 和 H_2O_2 含量下降,这种变化说明 COS 的添加有效缓解了低温对试管芋萌发的不利影响,降低了低

温对试管芋细胞膜系统的伤害,削弱了低温对试管芋萌发和形态建成的抑制作用,从而保证江西铅山红芽芋脱毒试管芋在低温下的正常生长发育,提高发芽率。

3.4 COS 浸种处理调控低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋贮藏物质分解代谢

植物种子萌发时,依靠水分、氧气和温度等外因的协助,代谢活动开始活跃,激活多种水解酶类如脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶等活性,降解体内高分子内含物(脂肪、蛋白酶、淀粉),产生能量(ATP)和营养物质^[34]。淀粉在 α -AMS等细胞壁水解酶的作用下水解为小分子的糖类物质(葡萄糖)^[35],为种子萌发提供营养及能量;脂肪在LIP的作用下,催化分解油脂类物质生成糖类;蛋白酶催化胚乳中贮存的蛋白质水解为氨基酸^[36]。SS含量的变化代表植物体内碳水化合物的运转与代谢;SP大都为参与各种代谢的酶类,在一定程度上反应了植物体的内在生理代谢变化,主要与细胞膜的损伤、相关物质溶出有关;Pro可保护细胞膜系统,维持胞内酶的结构,减少胞内蛋白质的降解,保护氧化酶酶活性,维持细胞膜内外渗透压平衡,保护细胞不受损害^[37]。本研究表明,低温对江西铅山红芽芋脱毒试管芋萌发期间的脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶等活性产生显著的抑制作用,导致其SS、SP和Pro含量显著下降,而COS浸种后,在胁迫(低温)条件下,脱毒试管芋需要不断降低水势才能吸收水分,以维持试管芋体内水分平衡和正常生理代谢^[38]。因此,试管芋的脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶等的活性被激活,SS、SP和Pro的含量显著提高,试管芋细胞水势下降,导致其快速吸水,促进代谢,加快萌发,表明COS浸种可以减少低温对试管芋产生的负面影响,使低温对试管芋萌发期间代谢关键酶(脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶等)活性的不利影响得到了一定程度上的消除,有利于低温下试管芋代谢关键酶的修复,使代谢关键酶活性迅速恢复到正常水平或较高水平,从而加快了试管芋在低温下的生理代谢,促进了相关次生代谢物(SS、SP和Pro等)的提高;同时,可溶性糖和脯氨酸交替积累发挥渗透调节作用^[39],提高了江西铅山红芽芋脱毒试管芋的耐低温能力。低温下积累的脯氨酸还可作为试管芋能量和氮源的储存库,COS浸种后脯氨酸可直接参与试管芋的生理代谢,这对江西铅山红芽芋的春寒早播、芋种萌发及其后期高产收获都具有重要的意义。

4 结 论

1) 200 mg/L COS浸种可促进低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋 GA_3 、ZR、PA和JA的积累,提高脂肪酶、蛋白酶和 α -淀粉酶的活性,促进其贮藏物质分解,为其发芽提供更多物质和能量;

2) 200 mg/L COS浸种可提高低温下江西铅山红芽芋脱毒试管芋SOD、POD和CAT活性,增加SS、SP和Pro含量,降低低温MDA和 H_2O_2 含量,进而增强低抗逆性,维持细胞结构,降低低温危害,有效促进其萌芽能力。

[参 考 文 献]

- [1] 李青青,陈晨,曹艳亭,等.红芽芋多糖提取工艺优化及其抗氧化活性的研究[J].江西农业大学学报,2022,44(5): 1272-1282.
LI Qingqing, CHEN Chen, CAO Yanting, et al. Optimum extraction process for the polysaccharides from red bud taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) and its antioxidative activity in vitro[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2022, 44(5): 1272-1282. (in Chinese with English abstract)
- [2] 尹明华,江玲,姚慧婷,等.江西铅山红芽芋病毒种类LncRNA测序鉴定及其序列分析[J].中国农学通报,2023, 39(30): 114-122.
YIN Minghua, JIANG Ling, YAO Huiting, et al. LncRNA sequencing identification of virus species and the sequence analysis of Jiangxi Yanshan red bud taro[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2023, 39(30): 114-122. (in Chinese with English abstract)
- [3] 贾芯碧,潘饶,肖遥,等.红芽芋及荔浦芋叶绿体基因组测序及比较分析[J].热带作物学报,2023,44(5): 880-893.
JIA Xinbi, PAN Rao, XIAO Yao, et al. Comparative analysis and sequencing of chloroplast genome of *Colocasia esculenta* var. Redbud and *Colocasia esculenta* var. Lipu[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(5): 880-893. (in Chinese with English abstract)
- [4] 刘星月,朱强龙,李慧英,等.红芽芋脱毒试管芋诱导及植株再生[J].园艺学报,2020,47(12): 2427-2438.
LIU Xingyue, ZHU Qianglong, LI Huiying, et al. Induction and plant regeneration of virus-free microtuber in red bud taro[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(12): 2427-2438. (in Chinese with English abstract)
- [5] 张艺欣,邓雨晴,张清招,等.江西铅山红芽芋超低温疗法脱毒苗的离体保存[J].江苏农业科学,2021,49(21): 58-66.
- [6] 尹明华,张艺欣,邓雨晴,等.江西铅山红芽芋超低温疗法脱毒苗的转录组分析[J].福建农业学报,2020,35(10): 1050-1062.
YIN Minghua, ZHANG Yixin, DENG Yuqing, et al. Transcriptome analysis on cryotherapy-treated virus-free plantlets of red bud taro at Yanshan, Jiangxi province[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2020, 35(10): 1050-1062. (in Chinese with English abstract)
- [7] 刘星月.红芽芋脱毒种茎诱导及形成机制初步研究[D].南昌:江西农业大学农学院,2020.
LIU Xingyue. Studies on the preliminary mechanism for induction and formation of virus-free corm of red bud taro[J]. Nanchang: College of Agriculture, Jiangxi Agricultural University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [8] 尹明华,余媛媛,肖心怡,等.江西铅山红芽芋叶绿体基因组特征及系统发育分析[J].生物技术通报,2023,39(6): 233-247.
YIN Minghua, YU Huanyuan, XIAO Xinyi, et al. Chloroplast genomic characterization and phylogenetic analysis of *Colocasia esculenta* L. Schott var. cormosus cv. 'Hongyayu'

- from Jiangxi Yanshan[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(6): 233-247. (in Chinese with English abstract)
- [9] 赵小湾, 宋明璇, 刘金华, 等. 干旱胁迫下壳寡糖对番茄幼苗生理指标的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2023, (1): 163-168.
- ZHAO Xiaowan, SONG Mingxuan, LIU Jinhua, et al. Effects of chitooligosaccharides on physiological indexes of tomato seedlings under drought stress[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2023, (1): 163-168. (in Chinese with English abstract)
- [10] 陈浩, 李煜博, 邵志勇, 等. 壳寡糖和油菜素甾醇处理对番茄产量和品质的影响[J]. 核农学报, 2023, 37(2): 389-396.
- CHEN Hao, LI Yubo, SHAO Zhiyong, et al. Effects of chitosan oligosaccharide and brassinosteroid treatments on yield and quality of tomato[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2023, 37(2): 389-396. (in Chinese with English abstract)
- [11] 石欣隆, 杨月琴, 韩锁义, 等. 壳寡糖浸种对低温下花生种子萌发及生理代谢的影响[J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(1): 164-174.
- SHI Xinlong, YANG Yueqin, HAN Suoyi, et al. Effects of chitooligosaccharide soaking on germination and physiological metabolism of peanut seeds[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2023, 45(1): 164-174. (in Chinese with English abstract)
- [12] 张合瑶, 李莲芳, 刘娟, 等. 云南松苗木生长对 GA₃ 和壳寡糖浸种及缓释肥的响应[J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2023, 51(2): 74-82.
- ZHANG Heyao, LI Lianfang, LIU Xian, et al. Responses of *Pinus yunnanensis* seedlings growth to GA₃ and chitosan oligosaccharide seed soaking and slow-released fertilizer application[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2023, 51(2): 74-82. (in Chinese with English abstract)
- [13] 冶楠, 朱艳, 赵元寿, 等. 壳寡糖浸种对马铃薯微型薯芽生长和内源激素含量的影响[J]. 中国农业科学, 2023, 56(4): 788-800.
- YE Nan, ZHU Yan, ZHAO Yuanshou, et al. Effects of seed soaking with chitooligosaccharide on the growth of sprout and endogenous phytohormone content in potato minitubers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2023, 56(4): 788-800. (in Chinese with English abstract)
- [14] 姜若超, 李莲芳, 李俞鑫, 等. IAA、GA₃ 和壳寡糖浸种对滇油杉种子发芽的影响[J]. 西部林业科学, 2021, 50(6): 110-116.
- JIANG Ruochao, LI Lianfang, LI Yuxin, et al. Effects of soaking seed with IAA and GA₃ involved chitosan oligosaccharide on seed germination of *Keteleeria evelyniana*[J]. Journal of West China Forestry Science, 2021, 50(6): 110-116. (in Chinese with English abstract)
- [15] 吴莉, 单守明. 叶面喷施壳寡糖对“赤霞珠”葡萄幼苗抗低温胁迫的影响[J]. 中国南方果树, 2020, 49(4): 107-110.
- WU Li, SHAN Shouming. Effects of foliar spraying chitooligosaccharide on cold stress tolerance of Cabernet Sauvignon grapevine seedling[J]. South China Fruits, 2020, 49(4): 107-110. (in Chinese with English abstract)
- [16] 刘昌壮, 陶雨朝, 杨富强, 等. 硫酸锰溶液浸种对玉米种子萌发期抗盐碱生理特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(3): 645-656.
- LIU Changzhuang, TAO Yuzhao, YANG Fuqiang, et al. Effects of soaking seeds with manganese sulfate solution on saline-alkali resistance of maize seeds during germination[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2023, 39(3): 645-656. (in Chinese with English abstract)
- [17] 郝西, 崔亚男, 张俊, 等. 过氧化氢浸种对花生种子发芽及生理代谢的影响[J]. 作物学报, 2021, 47(9): 1834-1840.
- HAO Xi, CUI Yanan, ZHANG Jun, et al. Effects of hydrogen peroxide soaking on germination and physiological metabolism of seeds in peanut[J]. Acta Agronomica Sinica, 2021, 47(9): 1834-1840. (in Chinese with English abstract)
- [18] 张艺欣, 聂蒙, 钱华卉, 等. 江西铅山红芽芋植物抗病反应蛋白编码基因的克隆和表达分析[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(1): 57-62.
- [19] 李紫薇, 乔俊, 支彩艳, 等. 石墨烯浸种处理对萝卜生长和品质的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 38(19): 87-93.
- LI Ziwei, QIAO Jun, ZHI Caiyan, et al. Effects of graphene soaking and treatment on radish growth and quality[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(19): 87-93. (in Chinese with English abstract)
- [20] 朱清, 范鹤龄, 孙雪冰, 等. 链霉菌和壳寡糖对辣椒幼苗生长发育的影响[J]. 热带生物学报, 2022, 13(5): 509-513.
- ZHU Qing, FAN Heling, SUN Xuebing, et al. Effects of Streptomyces 30702 and chitososaccharides on growth and development of seedlings in Pepper[J]. Journal of Tropical Biology, 2022, 13(5): 509-513. (in Chinese with English abstract)
- [21] 杨浩, 曹庆军, 杨粉团, 等. 低温胁迫下不同类型玉米品种萌发的生理响应[J]. 玉米科学, 2023, 31(3): 74-82.
- YANG Hao, CAO Qingjun, YANG Fentuan, et al. Physiological response of different maize varieties to germination under low temperature stress[J]. Journal of Maize Sciences, 2023, 31(3): 74-82. (in Chinese with English abstract)
- [22] 唐双, 于安民, 刘爱忠. 脱落酸和赤霉素相互作用调控种子休眠或萌发的分子机理[J]. 分子植物育种, 2022, 20(20): 6893-6900.
- TANG Shuang, YU Anmin, LIU Aizhong. Molecular mechanisms underlain the regulation of seed dormancy or germination by the interactions between ABA and GA[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(20): 6893-6900. (in Chinese with English abstract)
- [23] 宋松泉, 刘军, 黄荟, 等. 赤霉素代谢与信号转导及其调控种子萌发与休眠的分子机制[J]. 中国科学: 生命科学, 2020, 50(6): 599-615.
- SONG Songquan, LIU Jun, HUANG Hui, et al. Gibberellin metabolism and signaling and its molecular mechanism in regulating seed germination and dormancy[J]. Scientia Sinica

- Vitae, 2020, 50(6): 599-615. (in Chinese with English abstract)
- [24] 宋松泉, 刘军, 唐翠芳, 等. 生长素代谢与信号转导及其调控种子休眠与萌发的分子机制[J]. 科学通报, 2020, 65(34): 3924-3943.
SONG Songquan, LIU Jun, TANG Cuifang, et al. Metabolism and signaling of auxins and their roles in regulating seed dormancy and germination[J]. Chinese Science Bulletin, 2020, 65(34): 3924-3943. (in Chinese with English abstract)
- [25] 张向歌, 宋万献, 朱雅婧, 等. 油莎豆茎豆萌发过程中内源激素含量的变化[J]. 种子, 2023, 42(8): 45-49.
ZHANG Xiangge, SONG Wanxian, ZHU Yajing, et al. Content changes of endogenous hormones in *Cyperus esculentus* tuber during germination[J]. Seed, 2023, 42(8): 45-49. (in Chinese with English abstract)
- [26] 任尚福. 大果白刺种子内源激素含量研究[J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(1): 24-28.
REN Shangfu. Study on the endogenous hormone content in seeds of *Nitraria roborowskii* Kom.[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2023, 42(1): 24-28. (in Chinese with English abstract)
- [27] KHAJURIA A, OHRI P. Polyamines induced nematode stress tolerance in *Solanum lycopersicum* through altered physico-chemical attributes[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2020, 112: 101544.
- [28] 王晓龙, 杨翌, 李红, 等. 6 个苜蓿品种种子萌发对低温的响应[J]. 中国草地学报, 2022, 44(7): 79-86.
WANG Xiaolong, YANG Zhao, LI Hong, et al. Response of seed germination of six *Medicago sativa* varieties to low temperature[J]. Chinese Journal of Grassland, 2022, 44(7): 79-86. (in Chinese with English abstract)
- [29] 柯媛媛, 陈翔, 倪芊芊, 等. 低温逆境胁迫下小麦 ROS 代谢及调控机制研究进展[J]. 大麦与谷类科学, 2021, 38(1): 1-6.
KE Yuanyuan, CHEN Xiang, NI Qianqian, et al. Research progress of the metabolism of reactive oxygen species and its regulation mechanisms in wheat under low temperature stress[J]. Barley and Cereal Sciences, 2021, 38(1): 1-6. (in Chinese with English abstract)
- [30] 谢文辉, 黄莉娟, 赵丽丽, 等. 钙盐胁迫对 3 份葛藤种质种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草业学报, 2022, 31(7): 220-233.
XIE Wenhui, HUANG Lijuan, ZHAO Lili, et al. Effects of calcium salt stress on seed germination and seedling physiological characteristics of three *Pueraria lobata* germplasm lines[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(7): 220-233. (in Chinese with English abstract)
- [31] 冯煜, 赵颖楠, 林瑞嫦, 等. 除草剂配施安全剂对土壤酶活性与糜子根系生理代谢的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(23): 117-123.
FENG Yu, ZHAO Yingnan, LIN Ruichang, et al. Effects of combined application of safeners and herbicides on soil enzyme and active oxygen metabolism in proso millet[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(Transactions of the CSAE), 2020, 36(23): 117-123. (in Chinese with English abstract)
- [32] 王擎运, 何咏霞, 陈景, 等. 秸秆或粉煤灰添加对砂姜黑土持水性及小麦抗干旱胁迫的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(2): 95-102.
WANG Qingyun, HE Yongxia, CHEN Jing, et al. Effects of straw or fly ash addition on water holding capacity of typical Shajiang black soil and drought stress tolerance in wheat[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(Transactions of the CSAE), 2020, 36(2): 95-102. (in Chinese with English abstract)
- [33] 徐扬, 丁红, 张冠初, 等. 盐胁迫下花生种子萌发期代谢组学分析[J]. 生物技术通报, 2023, 39(1): 199-213.
XU Yang, DING Hong, ZHANG Guanchu, et al. Metabolomics analysis of germinating peanut seed under salt stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(1): 199-213. (in Chinese with English abstract)
- [34] 王志华, 贾朝爽, 谭焕光, 等. 采收期结合 1-MCP 对苹果采后生理和贮藏品质的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 38(20): 293-300.
WANG Zhihua, JIA Chaoshuang, TAN Huanguang, et al. Effects of harvest date combined with 1-MCP on postharvest physiological and storage quality of 'Venus Gold' apple[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(Transactions of the CSAE), 2022, 38(20): 293-300. (in Chinese with English abstract)
- [35] 郭聪聪, 沈永宝, 史锋厚. 温度对白皮松种子萌发过程中储藏物质代谢及酶活性的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2023, 47(6): 25-34.
GUO Congcong, SHEN Yongbao, SHI Fenghou. Effects of temperature on stored substance metabolism and enzyme activity during germination of *Pinus bungeana* seeds[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2023, 47(6): 25-34. (in Chinese with English abstract)
- [36] 苏晓丽, 舒欣, 王晓耘, 等. 外源褪黑素对 NaCl 胁迫下老芒麦种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 草业科学, 2023, 40(10): 2595-2606.
SU Xiaoli, SHU Xin, WANG Xiaoyun, et al. Effects of exogenous melatonin on seed germination and seedling growth of *Elymus sibiricus* under NaCl stress[J]. Pratacultural Science, 2023, 40(10): 2595-2606. (in Chinese with English abstract)
- [37] 杨爱峥, 李志磊, 付强, 等. CO₂ 浓度倍增和土壤盐胁迫对藜麦生理特征及产量的影响[J]. 农业工程学报, 2021, 37(4): 181-187.
YANG Aizheng, LI Zhilei, FU Qiang, et al. Effects of elevated atmospheric CO₂ on physiological characteristics and yield of quinoa to salinity stress[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(Transactions of the CSAE), 2021, 37(4): 181-187. (in Chinese with English abstract)
- [38] 张美娟, 王冰, 黄升财, 等. 糠醛渣改良土壤增强苕子对盐碱土的适应性[J]. 农业工程学报, 2020, 36(6): 115-121.
ZHANG Meijuan, WANG Bing, HUANG Shengcai, et al. Enhancing the adaptation of *Vicia villosa* Roth to salinity-

alkalinity soils improved using furfural residues[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(Transactions of the CSAE), 2020, 36(6): 115-121. (in Chinese with English abstract)

[39] 摆小蓉, 闵炜芳, 石亚飞, 等. 干旱对不同水稻萌发种子中逆境生理及相应基因表达的影响[J]. 华北农学报, 2023,

38(4): 101-111.

BAI Xiaorong, MIN Weifang, SHI Yafei, et al. effect of drought stress in physiology and corresponding gene expression in the germination seeds of different rice germplasm[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2023, 38(4): 101-111. (in Chinese with English abstract)

Effects of chitosan oligosaccharide soaking on germination and physiological metabolism of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature

YIN Minghua^{1,2,3,4}, XIAO Xinyi¹, FANG Yaxuan¹, WAN Jing¹, MU YESAIR·Turuhong¹, CHEN Yue¹

(1. College of Life Sciences, Shangrao Normal University, Shangrao 334001, China;

2. Shangrao Agricultural Technology Innovation Research Institute, Shangrao 334001, China;

3. Key Laboratory of protection and utilization of medicinal and edible plant resources in Shangrao City, Shangrao 334001, China;

4. Key Laboratory of germplasm conservation and utilization of potato and taro crops in Shangrao City, Shangrao 334001, China)

Abstract: Jiangxi Yanshan red bud taro is one of national geographical indication agricultural products from Yanshan County, Jiangxi Province, China. This type of vegetable is generally propagated asexually through corms. Such long-term cultivation can easily lead to virus accumulation and species degeneration. Cultivation of red bud taro virus-free plantlets can restore its species, enhance its growth potential and disease resistance, and significantly increase its yield and quality. However, some challenges are still remained on the large-scale cultivation in the virus-free seedlings of Jiangxi Yanshan red bud taro, such as relatively weak virus-free seedlings, low survival rates of transplantation and domestication, difficulty in long-distance transportation and cultivation, as well as the long-distance exchange of germplasm. Alternatively, virus-free test tube taro can serve as the virus-free seedlings, due to the stronger stress resistance, easy conservation, convenient transportation, and germplasm exchange. Virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro can be produced year-round and can achieve industrial production. Virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro is generally sown on sunny days from January to early February. Low temperature can limit its germination, and low temperature stress such as "late spring cold" can cause early sown virus-free test tube taro to grow slowly, have a longer emergence cycle, and in severe cases, cause virus-free test tube taro die, resulting in a lower emergence rate and affecting its yield. This study aims to improve the cold resistance of virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro in the sowing period. Plant tissue culture and plant physiology were used to determine the germination and physiological indexes of virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro under low temperature after soaking with chitosan oligosaccharides. The results showed that the soaking seeds with 200-250 mg/L chitosan oligosaccharide were significantly promoted the germination of virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro under low temperature. When the soaking concentration of chitosan oligosaccharide was 200 mg/L, there was the better accumulation of gibberellin (GA₃), ribosylzeatin (ZR), polyamines (PA), and jasmonic acid (JA), whereas, the less accumulation was observed in the auxin (IAA) and abscisic acid (ABA) in terms of endogenous hormones. In terms of antioxidation, 200 mg/L chitosan oligosaccharide could increase in the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT), whereas reduce the contents of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H₂O₂). In terms of osmotic regulation, there was the better accumulation of soluble sugars (SS), soluble proteins (SP) and proline (Pro) when the soaking concentration of chitosan oligosaccharide was 200 mg/L. In terms of metabolic key enzymes, 200 mg/L chitosan oligosaccharide could increase the activity of lipase (LIP), protease (PR) and α -Amylase (α -AMS) and the content of adenosine triphosphate (ATP). Therefore, 200 mg/L chitooligosaccharide could regulate the content of endogenous plant hormone and osmoregulation substances, as well as the activities of antioxidant enzymes and key metabolic enzymes in the virus-free test tube taro of Jiangxi Yanshan red bud taro at low temperature, and promote its germination. The finding could provide a strong reference for the cold tolerance of virus-free test tube taro from Jiangxi Yanshan red bud taro. It was of great significance for the early spring cold sowing, taro seed germination, and high-yield harvest of Jiangxi Yanshan red bud taro.

Keywords: chitosan oligosaccharide; soak; low temperature; Jiangxi Yanshan red bud taro; ??; germination; physiological metabolism