

基于等离子体处理的苜蓿种子活力综合评价

王德成^{1,4}, 黄 晨¹, 尤 泳^{1,4}, 刘金龙^{2,4}, 贺 刚³, 张宇卓¹, 惠云婷^{1,4*}

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 宁夏千叶青农业科技发展有限公司, 石嘴山 753000; 3. 中国农业机械化科学研究院呼和浩特分院有限公司, 呼和浩特 010010; 4. 农业农村部牧草种子生产加工机械装备重点实验室, 石嘴山 753400)

摘 要: 为获取促进苜蓿生长效果的最佳等离子体处理条件, 构建等离子体苜蓿种子处理的实际效应模型, 该研究以中苜 4 号为试验材料, 运用二元二次正交回归旋转组合设计, 探究等离子体处理功率和处理时间对苜蓿种子发芽势、发芽率、电导率、种皮吸水率、幼苗根长、芽长、鲜质量、干质量 8 项指标的影响, 通过方差分析、主成分分析等统计方法, 构建综合评价模型, 建立等离子体处理功率和处理时间与苜蓿种子综合发芽试验指数的数学模型, 并寻求优化的处理条件方案。结果表明: 等离子体处理对苜蓿种子活力提升有积极作用, 显著 ($P<0.05$) 提高了种皮吸水率 (20.93%)、幼苗芽长 (16.05%)、鲜质量 (18.57%)、干质量 (18.39%), 显著 ($P<0.05$) 降低了种子电导率 (28.86%); 主成分分析提取了 3 个主成分, 累积贡献率达 93.38%, 其中综合得分最高的是 G12 试验组 (处理功率 120 W、处理时间 12 s); 二因素对苜蓿综合发芽试验指数的影响有阈值效应, 且影响效应为处理功率 > 处理时间; 由模型分析得到等离子体处理的优化条件为处理功率 142 W, 处理时间 16 s; 经试验验证, 在优化处理条件下的苜蓿综合发芽试验指数为 0.973, 与理论值 0.955 相比, 相对误差为 2.83%, 进一步证明了模型的可靠性。研究结果为等离子体种子处理技术的推广应用提供理论支撑, 同时为种子质量提供一种全面的评价方法。

关键词: 种子活力; 主成分分析; 等离子体; 苜蓿

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202407088

中图分类号: O539

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2024)-22-0234-09

王德成, 黄晨, 尤泳, 等. 基于等离子体处理的苜蓿种子活力综合评价[J]. 农业工程学报, 2024, 40(22): 234-242. doi:

10.11975/j.issn.1002-6819.202407088 <http://www.tcsae.org>

WANG Decheng, HUANG Chen, YOU Yong, et al. Comprehensive evaluation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed vitality based on plasma treatment[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2024, 40(22): 234-242. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202407088 <http://www.tcsae.org>

0 引 言

苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 因其蛋白含量高、耐盐及耐寒性较强等优点被认为是非常重要的饲料作物^[1-2], 广泛种植于中国东北、华北地区。2023 年国内苜蓿种子进口量为 0.48 万 t, 相比 2022 年增长了 2 倍^[3]。苜蓿种子因种皮表层富含致密的疏水蜡状物, 抑制水分渗透, 阻碍种子的萌发和生长, 进而致使种子活力降低、出苗难度增加。高质量高活力的牧草种子是牧草业日益发展的重要物质保障, 具有较高活力的种子往往表现出更强的生长优势。通过播前处理可以对种子产生积极的作用从而改善其品质, 促进牧草业发展^[4-7]。

目前, 常用的种子播前处理方法有化学方法、生物方法和物理方法^[8]。化学处理方法一般采用一些化学药剂进行浸泡或涂覆, 如包衣、拌种、浸种等; 生物处理方法有生物防治、植物激素等; 物理方法有机械摩擦、磁

化、微波和等离子体等。化学处理方法容易有药剂残留, 危害环境及人畜健康, 生物方法效果不显著且成本高, 而作为物理处理方法之一的等离子体处理, 由于其对种子萌发和作物生长的有效作用与环保且经济的优势, 在农业生产领域有广泛的应用^[9]。等离子体处理可以促进种子的生长, 提高其抗逆性^[10-11], 在不伤害种子的基础上对种子进行处理^[12], 为苜蓿的高质高产提供技术支撑。因此, 研究等离子体对种子的处理效应具有一定的现实意义。

国内外关于等离子体对种子的处理效应在种子萌发、幼苗生长、杀菌效果及抗逆性方面都有较多研究^[13-16]。由于等离子体种子处理机理的复杂性, 对其研究大多是基于影响因素和结果指标的一些统计学规律, 以期探究其合理的范围及阈值。邵长勇等^[13]利用等离子体处理大葱种子发现发芽势和发芽率都有显著提高, 处理小麦种子发现田间的根长、鲜质量, 最大分蘖比也有显著提高^[17]。王永维等^[18]以不同真空环境介质、不同功率对两种水稻种子进行了等离子体处理, 结果表明不同品种的种子在不同介质对等离子体的响应也不一样。KHAMSEN 等^[19]研究表明等离子体处理能够提升水稻种子的吸水性, 抑制真菌生长, 提高其生长速率。RECEK 等^[20]研究表明等离子体处理能够显著降低种子水接触角, 在处理时间为 3 s 时, 水接触角达到一个极好的值 ($2^{\circ}\sim 3^{\circ}$)。GUO 等^[21]发现等离子体处理有助于减轻干旱胁迫对小

收稿日期: 2024-07-10 修订日期: 2024-10-31

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD2001902); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-34)

作者简介: 王德成, 教授, 博士生导师, 研究方向为草业机械装备。

Email: wdc@cau.edu.cn

※通信作者: 惠云婷, 博士, 讲师, 研究方向为草业机械装备。

Email: hyt@cau.edu.cn

麦种子萌发和幼苗生长的负面影响。

综上所述，不同等离子体处理条件下，对种子的作用呈现不同的促生效果，甚至呈现抑制作用^[22]，活力难以评判。目前种子活力检测评价的研究存在明显不足，尤其是在评价方法上，多数研究基于种子的无损检测，活力评价指标多依于单一的发芽势、发芽率或芽长等^[23-25]，不能系统准确地反映苜蓿种子处理后的活力指数。因此，本研究旨在通过构建一个综合评价模型，系统的对等离子体苜蓿种子处理的活力进行评估，通过构建等离子体苜蓿种子处理的实际效应模型，解析不同条件下效应之间的交互作用，阐明处理的最佳工艺和合理阈值，为苜蓿种子播前处理的活力保障和综合评价提供理论依据和方法支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所需种子从宁夏千叶青农业科技发展有限公司所种植的苜蓿种子田采集，品种为中苜 4 号。

1.2 试验仪器

试验所用等离子体种子处理装置如图 1 所示，该装置为中国农业大学智能草业装备与智慧草业研究团队自主研发，处理效率高，适用于实际生产。工作流程图如图 2。



图 1 等离子体种子处理机
Fig.1 Plasma seed processor

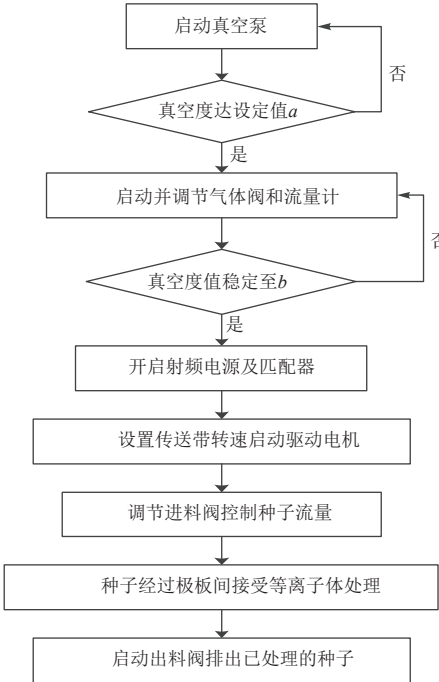


图 2 等离子体种子处理机工作流程
Fig.2 Workflow of plasma seed processor

其他试验仪器有 BD-PRX 型智能人工气候培养箱，南京贝帝实验仪器有限公司；DDS-307A 型电导率仪，上海仪电科学仪器股份有限公司；AR2140 型电子天平，上海奥豪斯仪器有限公司；绿林-WXL-Z01 型游标卡尺和卷尺，烟台市绿林工具有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 种子样品处理

挑选饱满的苜蓿种子，外皮完整且大小均匀，经由等离子体种子处理机处理。根据前期试验结果，确定本试验等离子体处理的参数范围为：处理功率 60~180 W，处理时间 3~21 s。

1.3.2 试验设计

采用二元二次正交回归旋转组合设计试验，处理功率（W）和处理时间（s）为因变量，并设置对照组（CK）。试验因素水平与编码表和二元二次正交回归旋转组合设计结构矩阵分别见表 1 和表 2。将处理后的种子放入智能人工气候培养箱中进行发芽试验。

表 1 试验因素水平与编码表		
Table 1 Levels and codes of experimental factors		
编码值 Coding value	因素水平 Level of factors	
	处理功率 Treatment power/W	处理时间 Treatment time/s
1.414	180	21
1	162	18
0	120	12
-1	78	6
-1.414	60	3

表 2 二元二次正交回归旋转组合设计结构矩阵表				
Table 2 Binary quadratic orthogonal regression rotated combination design structure matrix table				
试验组别 Text groups	编码值 Coding value		处理 Treatment	
	z_1	z_2	A/W	B/s
CK	-	-	0	0
G1	1	1	162	18
G2	1	-1	162	6
G3	-1	1	78	18
G4	-1	-1	78	6
G5	1.414	0	180	12
G6	-1.414	0	60	12
G7	0	1.414	120	21
G8	0	-1.414	120	3
G9	0	0	120	12
G10	0	0	120	12
G11	0	0	120	12
G12	0	0	120	12
G13	0	0	120	12

注： z_1 为处理功率的编码， z_2 为处理时间的编码， A 为处理功率， B 为处理时间。
Note: z_1 is coded for processing power, z_2 is coded for processing time, A is processing power, B is processing time.

1.3.3 种子活力指标测定

处理后的种子，按照 GB/T 2930.4-2017《草种子检验规程-发芽试验》进行试验：将不同处理组的种子分别放置于铺有两层滤纸的培养皿中，每个培养皿内放置 50 粒种子，并注入适量蒸馏水，每个处理组进行 3 次重复试验。随后，将含有种子的培养皿置于智能人工气候培养箱中，每日观察种子的生长情况，当幼芽长度超过种子原长的一半时即确定为发芽，及时补充水分并记录发芽情况，当

试验进行至第 10 天时, 统计种子萌发的各项活力指标。

1) 种子发芽率

$$G_R = \frac{n_1}{N} \times 100\% \quad (1)$$

式中 G_R 为种子发芽率, %; n_1 为发芽试验结束后正常发芽的种子数, 个; N 为培养皿内种子总数, 个。

2) 种子发芽势

$$G_P = \frac{n_2}{N} \times 100\% \quad (2)$$

式中 G_P 为种子发芽势, %; n_2 为发芽试验进行至第 4 天正常发芽的种子数, 个。

3) 幼苗根长与芽长

发芽试验结束后, 每个培养皿中随机选取 10 株幼苗, 用游标卡尺测量其芽长和根长, 重复 3 次。

4) 幼苗鲜质量与干质量

发芽试验结束后, 每个培养皿中随机选取幼苗 10 株, 用电子天平重复称量 3 次确定鲜质量。然后在 80 °C 下烘干至恒质量, 重复 3 次确定为干质量。

5) 种皮吸水性与种子电导率

种皮吸水性: 各试验组设 3 次重复, 每次重复各选 50 粒种子放入盛有去离子水的烧杯中, 放在 25 °C 的恒温环境中, 每隔 4 小时称量, 直至质量恒定为止。吸水率计算式为

$$W_A = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100\% \quad (3)$$

式中 W_A 为种皮吸水率, %; m_1 为浸种前种子质量, g; m_2 为浸种后种子质量, g。

种子电导率: 各试验组进行 3 次重复, 每次重复随机选择 50 粒大小均匀且无损伤的苜蓿种子, 经过去离子水清洗后放置于烧杯内, 添加 100 mL 去离子水, 置于 20 °C 恒温条件下浸泡 24 h, 利用电导率计检测浸泡液的电导率。对照组使用去离子水, 电导率的计算式为

$$C_S = C_1 - C_0 \quad (4)$$

式中 C_S 为种子电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$; C_0 为去离子水电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$; C_1 为试验组浸泡液电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$;

1.3.4 数据处理

采用 SPSS 27 软件进行单因素方差分析及主成分分析, 使用 Origin 2017 进行绘图计算不同等离子体处理条件后苜蓿种子萌发情况的差异性, 并利用主成分分析法对种子的萌发指标进行降维处理, 得到综合发芽试验指数, 并建模寻优。

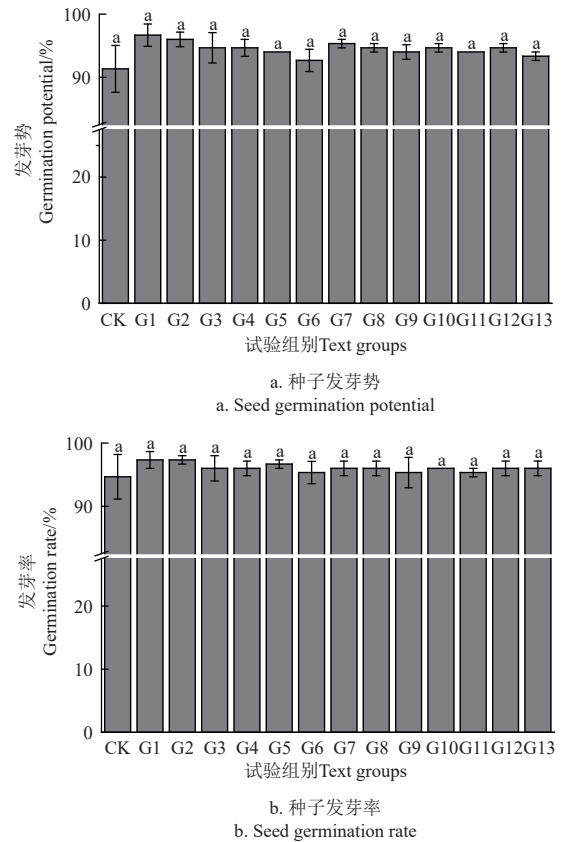
2 结果与分析

2.1 等离子体处理对苜蓿种子萌发特性的影响

2.1.1 种子发芽率和发芽势

种子发芽率和发芽势关系到作物种子产量, 是选择优质种子的标准[26]。等离子体处理对苜蓿发芽势和发芽率的影响如图 3 所示, 可看出处理后的苜蓿种子与对照组相比发芽势和发芽率均有一定程度的提高且升降趋势相同, 但差异并不显著 ($P > 0.05$)。其中试验组

G1 的发芽势最高, 相比对照组发芽势提高了 5.84%; 试验组 G1、G2 的发芽率最高, 相比对照组发芽率提高了 2.82%。



注: 柱状图上的小写字母不同者表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Different lowercase letters on the bar graphs indicate significant differences ($P < 0.05$), as follows.

图 3 不同试验组的种子发芽势和发芽率

Fig. 3 Seed germination potential and germination rate in different text groups

2.1.2 幼苗根长和芽长

根系形态与养分吸收、草产量有关联, 根系越发达, 草产量越高, 同时, 苜蓿的发达根系在土壤中有很好的固氮作用[27-28]。而根芽比可作为作物萌发期耐盐性评价的重要指标[29]。如图 4 所示, 经等离子体处理后的苜蓿幼苗与对照组相比根长均有所增长但差异并不显著 ($P > 0.05$), 其中试验组 G9 的根长最长, 相比对照组的根长增长 21.47%; 经等离子体处理后的苜蓿幼苗与对照组相比芽长均有所增长, 除试验组 G3、G6 外, 其余试验组的芽长均存在显著性 ($P < 0.05$) 差异, 试验组 G5 的芽长最长, 相比对照组的芽长增长 16.05%。

2.1.3 幼苗鲜质量和干质量

苜蓿鲜质量直接反映了牧草的产量, 而苜蓿干草可以改善羔羊生长和胴体特征[30]。如图 5 所示, 经等离子体处理后的苜蓿幼苗与对照组相比鲜质量和干质量均有所增加, 且各试验组鲜质量与对照组的差异均达到显著水平 ($P < 0.05$), 试验组 G13 的鲜质量最高, 相比对照组鲜质量增长 18.57%; 试验组 G1、G2 的干质量与对照组差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 试验组 G2 的干质量

最高, 相比对照组干质量增长 18.39%。

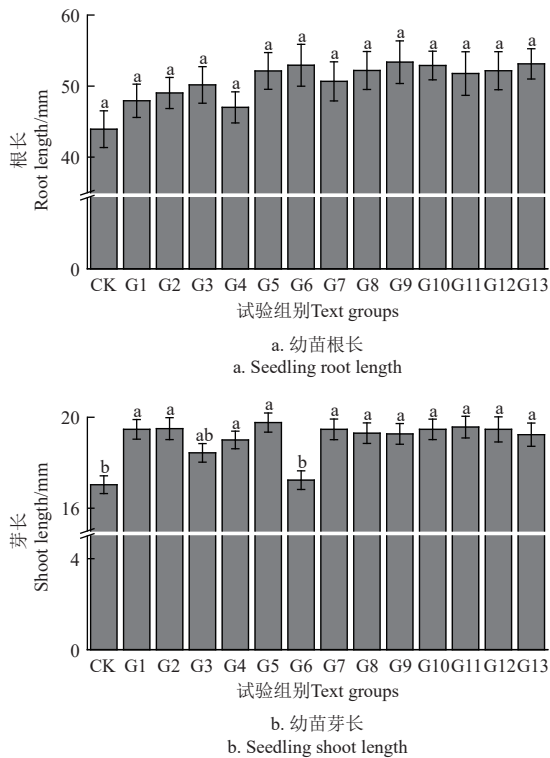


图 4 不同试验组的幼苗根长和芽长

Fig.4 Seedling root length and shoot length in different text groups

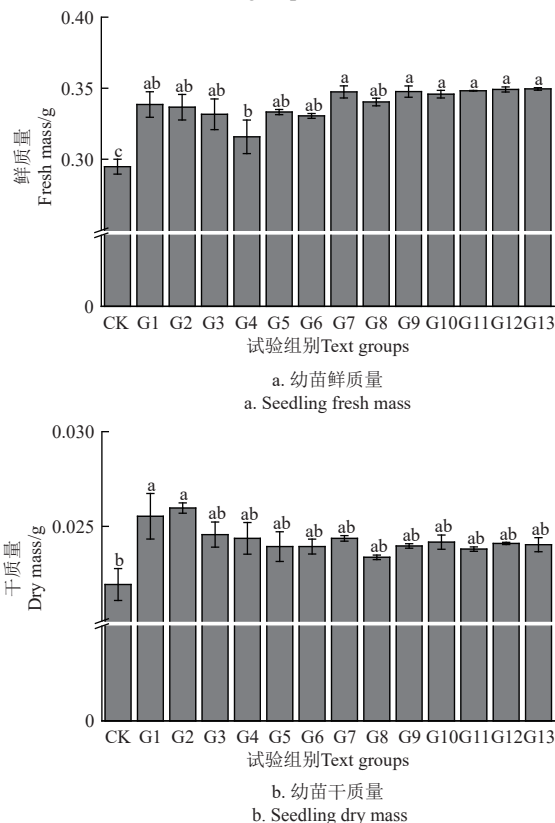


图 5 不同试验组的幼苗鲜质量和干质量

Fig.5 Seedling fresh and dry mass in different text groups

2.1.4 种子电导率和种皮吸水率

电导率反映了种子细胞膜的损伤程度, 与低活力种子相比, 高活力种子的细胞膜损伤程度更小。且在修复

损伤和发芽吸水初期表现更好, 呈现出电导率与种子活力呈负相关的特点^[31]。如图 6a 所示, 经等离子体处理后的苜蓿种子与对照组相比, 电导率有一定程度的降低。其中试验组 G6 的电导率最低, 相比对照组显著 ($P < 0.05$) 降低了 28.86%。

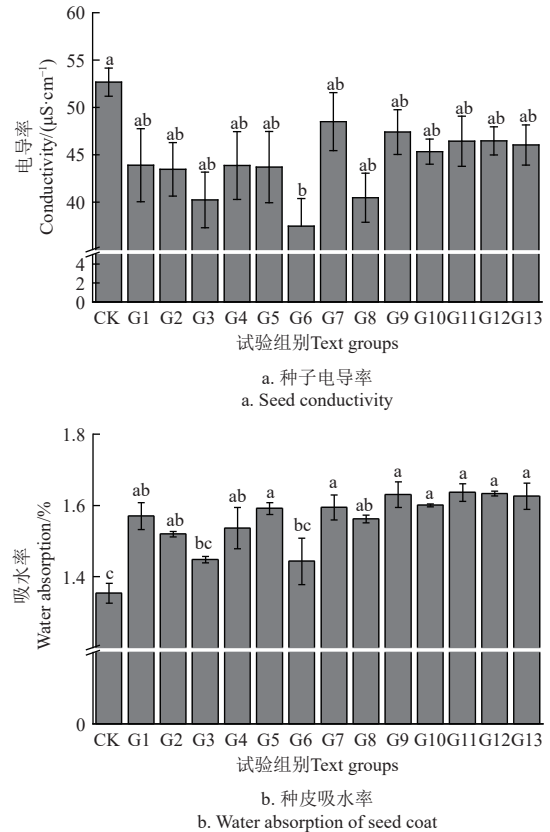


图 6 不同试验组的种子电导率和种皮吸水率

Fig.6 Seed conductivity and water absorption of seed coat in different text groups

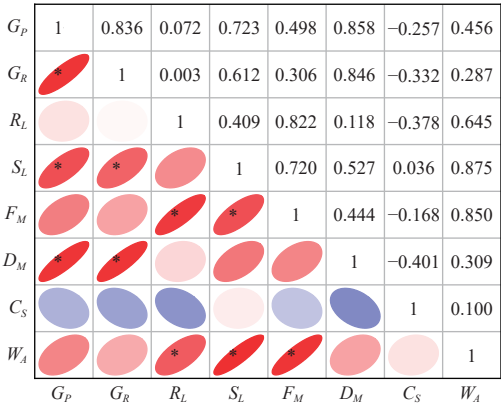
种子萌发的首要条件是水分, 而种皮的吸水率则能反映其萌发潜力^[32]。如图 6b 所示, 经等离子体处理后的苜蓿种子种皮吸水率与对照组相比均有一定的提高。除试验组 G3、G6 外, 其余处理组与对照组的吸水率差异显著 ($P < 0.05$), 其中 G11 的吸水率最高, 相比对照组吸水率提高了 20.93%。

2.2 基于主成分分析 (PCA) 的苜蓿种子等离子体处理效应评价建模

为全面研究等离子体处理后苜蓿种子特性和发芽特性的变化, 试验选定种子发芽势、发芽率、电导率、种皮吸水率、幼苗根长、芽长、鲜质量、干质量 8 个指标进行考查, 这些试验指标能够从不同角度反映等离子体处理对苜蓿种子特性及发芽特性影响, 提供较全面的评估依据。然而, 考察指标较多不仅会造成分析上的困难, 而且由于这些试验指标在信息的反映上有一定重复性, 会造成分析的复杂化。因此, 研究采用主成分分析的计算方法, 利用 PCA (principal component analysis) 降维的思想, 将原试验设计的高度相关的试验指标进行重新组合, 合成数量较少的几个互不相干的综合指标, 降低数据维度的同时保留大部分关键信息。

2.2.1 苜蓿发芽试验指标间的相关性

图 7 为苜蓿发芽试验 8 项试验指标间的相关性分析，等离子体处理后苜蓿种子特性及发芽特性指标间相关性分析结果表明，8 项指标间存在不同程度的相关性，试验指标间相互影响，其中种子发芽势与发芽率、幼苗芽长、干质量，种子发芽率与幼苗芽长、干质量，幼苗根长与鲜质量、种皮吸水率，幼苗芽长与鲜质量、种皮吸水率，以及幼苗鲜质量与种皮吸水率均呈显著正相关，其中幼苗芽长与种皮吸水率的相关系数最大，为 0.875；种子电导率与发芽势、发芽率、幼苗根长、鲜质量和干质量呈负相关，但相关性不显著。



注：*表示在 0.05 水平显著相关。 G_P 为种子发芽势， G_R 为种子发芽率， R_L 为幼苗根长， S_L 为幼苗芽长， F_M 为幼苗鲜质量， D_M 为幼苗干质量， C_S 为种子电导率， W_A 为种皮吸水率。
Note: * indicates significant correlation at the 0.05 level. G_P is seed germination potential, G_R is seed germination rate, R_L is seedling root length, S_L is seedling shoot length, F_M is seedling fresh mass, D_M is seedling dry mass, C_S is seed conductivity, W_A is water absorption of seed coat.

图 7 试验指标间的相关性分析

Fig.7 Correlation analysis between the test indicators

2.2.2 苜蓿发芽试验指标的主成分分析

由图 7 可知，不同试验指标间相关性较为显著，表明各试验指标间存在较强联系，故可采用主成分分析法进行数据的分析。对等离子体处理后苜蓿发芽试验的 8 个试验指标进行主成分分析，表 3 所示的主成分特征值和贡献率是选取主成分的依据，根据特征值大于 1 的原则^[33]，提取了 3 个主成分，累积方差贡献率达 93.38%。各个试验指标的主成分载荷值显示了各个指标与有关主成分的相关系数如表 4 所示，第 1 主成分反映了原始信息的 54.44%，苜蓿种子的发芽势、发芽率、幼苗根长、芽长、鲜质量、干质量、种皮吸水率有较大的正系数值，说明第 1 主成分较大时，这 7 项试验指标的值比较大；第 2 主成分反映了原始信息的 23.48%，苜蓿幼苗根长、种子种皮吸水率有较大的正系数值，苜蓿种子的发芽率、幼苗干质量有较大的负系数值，说明第 2 主成分较大时，苜蓿幼苗根长、种子的种皮吸水率较大，种子发芽率、幼苗干质量较小；第 3 主成分反映了原始信息的 15.46%，苜蓿种子电导率有较大的正系数值，说明第 3 主成分大时，种子电导率较大。

表 3 各个主成分的特征值和贡献率

Table 3 Eigenvalues and contribution rates of each principal component

主成分 Principal components	特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rates/%	累积贡献率 Cumulative contribution rates/%
1	4.355	54.44	54.44
2	1.878	23.48	77.92
3	1.237	15.46	93.38
4	0.243	3.04	96.42
5	0.153	1.91	98.33
6	0.083	1.03	99.36
7	0.034	0.43	99.79
8	0.017	0.21	100.00

表 4 各试验指标的主成分载荷矩阵

Table 4 Principal component loading matrix for each test indicator

试验指标 Test indicators	主成分 Principal component		
	1	2	3
G_P	0.841	-0.442	0.147
G_R	0.742	-0.592	0.060
R_L	0.544	0.671	-0.478
S_L	0.887	0.146	0.348
F_M	0.834	0.478	-0.101
D_M	0.780	-0.527	-0.079
C_S	-0.301	0.279	0.885
W_A	0.788	0.524	0.248

2.2.3 等离子体处理对苜蓿种子效应的综合评价

将各试验指标的主成分载荷值除以相应的主成分特征值开平方根，得到每个试验指标所对应的主成分系数，以主成分系数为权重建立 3 个主成分得分的计算式：

$$F_1 = 0.403X_1 + 0.356X_2 + 0.261X_3 + 0.425X_4 + 0.4X_5 + 0.374X_6 - 0.144X_7 + 0.378X_8 \quad (5)$$

$$F_2 = -0.323X_1 - 0.432X_2 + 0.49X_3 + 0.107X_4 + 0.349X_5 - 0.385X_6 + 0.204X_7 + 0.382X_8 \quad (6)$$

$$F_3 = 0.132X_1 + 0.054X_2 - 0.43X_3 + 0.313X_4 - 0.091X_5 - 0.071X_6 + 0.796X_7 + 0.223X_8 \quad (7)$$

式中 F_1 、 F_2 、 F_3 表示第 1、2、3 主成分的得分， $X_1 \sim X_8$ 为种子发芽势、发芽率、电导率、种皮吸水率、幼苗根长、芽长、鲜质量、干质量 8 项试验指标标准化后的数值。

根据各主成分对应的方差贡献率为权重，综合发芽试验指标的计算式如下：

$$Z = 0.5444F_1 + 0.2348F_2 + 0.1546F_3 \quad (8)$$

式中 Z 为综合发芽试验指标，即综合得分。

根据以上模型得到等离子体处理对苜蓿种子效应的综合评分，并根据综合评分高低进行排序，综合得分越高说明等离子体的处理效应越好，表 5 直观反映了不同等离子体处理条件对苜蓿种子效应的优劣情况。

综合发芽试验指数涵盖了种子发芽势、发芽率等 8 项试验指标，综合体现了种子的活力高低情况。本试验中，适宜剂量的等离子体处理下的苜蓿种子的综合发芽试验指标与对照相比，都有不同程度的提高，其原因是种子经过等离子体处理后，等离子体中的高能粒子、电场、活性氧等会刻蚀种子表皮，增加表面极性基团，提高种子的亲水性和吸水性；同时，等离子体中掺杂的活性氧还能使种子表面的真菌孢子失活；等离子体处理还

能引起植物内源激素水平的变化从而促进其生长^[34-35]。

表 5 等离子体处理对苜蓿种子效应的主成分得分及综合评价
Table 5 Principal component scores and comprehensive evaluation of plasma treatment effects on alfalfa seeds

试验组别 Text groups	主成分得分 Principal component score (PCS)			综合得分 Comprehensive core	排序 Ranking
	F_1	F_2	F_3		
CK	-6.322	-0.423	1.482	-3.312	14
G1	2.036	-2.263	0.672	0.681	6
G2	1.871	-2.374	0.204	0.493	8
G3	-0.483	-1.234	-1.318	-0.756	12
G4	-0.739	-1.408	0.479	-0.659	11
G5	0.770	0.176	-0.013	0.458	9
G6	-1.947	0.045	-2.969	-1.508	13
G7	0.943	0.361	1.084	0.766	2
G8	0.377	0.447	-0.930	0.166	10
G9	0.417	1.797	0.306	0.696	4
G10	0.974	0.818	0.049	0.730	3
G11	0.428	1.609	0.484	0.686	5
G12	1.069	1.002	0.472	0.891	1
G13	0.605	1.447	-0.003	0.669	7

由主成分分析的综合评价结果可知，不同剂量的等离子体对苜蓿种子的处理效应不同，试验组 G12 的综合得分最高，综合得分 0.891；对照组 CK 综合得分最低，综合得分-3.312。说明等离子体种子处理能够较好的提升苜蓿种子的活力，且结合表 2 可知，当等离子体处理功率 120 W、处理时间 12 s 时，对苜蓿种子具有较显著的促进作用。

2.3 回归模型的建立及处理条件的优化

主成分分析将发芽试验原始的 8 个试验指标降维为一个综合发芽试验指数 Z，不仅避免了信息反映的重叠、降低了计算的复杂程度，而且全面、系统的分析了等离子体处理对苜蓿种子的处理效应。

为了进一步确定等离子体苜蓿种子处理的最佳处理条件，为后续等离子体技术在种子处理方面的应用提供理论支撑，在主成分分析的基础上，运用 Design Expert 软件对综合发芽试验指数 Z 进行回归分析，利用二元二次正交回归旋转组合设计试验方法，试验结果如表 6 所示，在剔除 $\alpha=0.01$ 的不显著项后，建立综合发芽试验指数 Z 与处理功率 A 和处理时间 B 之间的数学模型：

$$Z = -6.676 + 0.098A + 0.073B + 2.835 \times 10^{-4}AB - 3.578 \times 10^{-4}A^2 - 3.632 \times 10^{-3}B^2$$

(9)

表 6 二元二次正交回归旋转组合设计试验结果
Table 6 Experimental results of binary quadratic regression rotating combination design

试验组别 Text groups	A/W	B/s	Z
G1	162	18	0.681
G2	162	6	0.493
G3	78	18	-0.756
G4	78	6	-0.659
G5	180	12	0.458
G6	60	12	-1.508
G7	120	21	0.766
G8	120	3	0.166
G9	120	12	0.696
G10	120	12	0.730
G11	120	12	0.686
G12	120	12	0.891
G13	120	12	0.669

注：Z 为综合发芽试验指数。
Note: Z indicates the comprehensive germination test index.

由表 7 的回归模型方差分析表可知，P 值小于 0.000 1， $R^2=0.983\ 6$ ，说明回归模型极显著，回归方程的拟合性较好，能够有效反映综合发芽试验指数与处理功率和处理时间的关系；失拟检验的 P 值 $0.148\ 0 > 0.05$ ，因此失拟并不显著，说明未控制因素对试验结果的影响很小。

表 7 回归模型方差分析表
Table 7 Regression model ANOVA table

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean squares	F 值 F value	P 值 P-value	决定系数 Determination coefficients R^2
模型 Model	6.590	5	1.320	84.15	<0.000 1**	0.983 6
A	3.610	1	3.610	230.38	<0.000 1**	
B	0.120	1	0.120	7.37	0.030 0*	
AB	0.020	1	0.020	1.30	0.291 0	
A ²	2.830	1	2.830	180.95	<0.000 1**	
B ²	0.140	1	0.140	9.11	0.019 4*	
残差 Residual	0.110	7	0.016			
失拟 Lack of fit	0.077	3	0.026	3.16	0.148 0	
纯误差 Pure error	0.033	4	8.139×10^{-3}			
总计 Total	6.700	12				

注：*表示差异显著 ($P<0.05$)，**表示差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

处理功率 A 对 Z 的影响为极显著 ($P<0.000\ 1$)，处理时间 B 对 Z 的影响为显著 ($P<0.05$)。回归模型的系数绝对值大小可以反映各因素对综合发芽试验指数的影响效应，正负号表示各因素对目标函数的影响方向^[36]。由式 (9) 可知，处理功率和处理时间的一次项回归系数分别为 0.098、0.073，表明在设计范围内，二因素对苜蓿种子综合发芽试验指数具有明显的正效应，且影响次序为处理功率、处理时间。同时二因素交互作用的回归系数 P 值为 $0.291\ 0 > 0.05$ ，表明交互作用不显著，即二因素是相互独立的，没有互相替代和互相消减的作用，可以直接根据主效应来评估自变量对因变量的影响，这与谢焕雄等^[37]在研究低温等离子体对染菌马铃薯片的杀菌率效果得到的回归模型结果一致。根据式 (9) 绘制出等离子体处理功率和处理时间对综合发芽试验指数的耦合效应图见图 8。

从图 8 中可看出，曲面呈正凸面状，处理功率对发芽试验综合指数的抛物线陡峭度大于处理时间，表明二因素对发芽试验综合指数的影响有阈值效应，且处理功率对其的影响大于处理时间。已有研究表明，种子的生物效应对等离子体处理的反映存在临界条件^[38]，低剂量离子激活引发刺激效应，高剂量则产生抑制作用。

依据计算式 (9)，当综合发芽试验指数 Z 达到其最大值 0.955 时，对应的等离子体处理条件为：处理功率 142 W，处理时间 16 s。经试验验证，在此条件下，种子发芽势和发芽率均达到了 96%，幼苗根长为 54.45 mm，幼苗芽长为 19.43 mm，幼苗鲜质量为 0.351 g，幼苗干质量为 0.023 9 g，种子电导率为 42.67 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，种子吸水率为 1.60%。将试验所得的 Z 值 0.973 与理论预测值 0.955 进行比较，得出的相对误差为 2.83%，证明了模型的合

理性。因此,该模型得到的等离子体处理的优化条件比较可靠,可以作为下一步分析的基础。

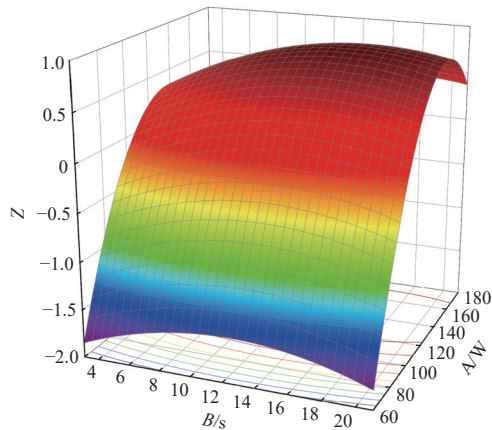


图8 二因素对苜蓿种子综合发芽试验指数的耦合效应

Fig.8 Coupling effect of two factors on the integrated germination test index of alfalfa seeds

3 结论

本试验通过对苜蓿种子进行不同功率与时间的等离子体处理,探究其对苜蓿种子萌发及幼苗生长的最佳工艺与合理阈值,主要研究结论如下:

1) 等离子体处理对苜蓿种子发芽势和发芽率、幼苗根长、苗长、鲜质量及干质量、种子的吸水率和电导率均具有积极的影响效果,有利于提高苜蓿出苗的一致性与产量。

2) 对各个试验指标进行相关性分析,结果表明:不同试验指标间相关性较为显著($P < 0.05$),表明各试验指标间存在较强联系,故可采用主成分分析法进行数据的分析。采用主成分分析方法,将8项发芽试验指标提取出3个主成分累计方差贡献率达到了93.38%。

3) 本试验采用二元二次正交回归旋转组合设计,建立了等离子体处理功率、处理时间与苜蓿种子综合发芽试验指数间的数学模型,模型方差分析表明:模型显著性极好,同时,决定系数 R^2 为0.9836,拟合效果较好。二因素耦合效应表明:等离子体处理功率与处理时间对综合发芽试验指数的影响有阈值效应,处理功率的影响大于处理时间。由模型可得等离子体优化处理条件为处理功率142 W,处理时间16 s,经过验证,模型和优化条件的选取有一定可靠性。

本文基于主成分分析法和二元二次正交回归旋转组合设计试验方法建立了一个全面评价等离子体处理效应的模型,能够综合考虑不同效应之间的交互作用,来确定处理的最佳参数,为等离子体对苜蓿种子的最佳处理条件选择提供理论依据,对促进等离子体在种子播前处理方面的应用具有积极意义。后续需考虑处理前后苜蓿种子的田间生长性状研究,以验证等离子体技术提升苜蓿种子质量的时效性。

【参考文献】

[1] HUANG Z, SUN L, LIU Y, et al. Alfalfa planting significantly

improved alpine soil water infiltrability in the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Agriculture ecosystems & Environment*, 2019, 285: 106606.

- [2] 田德龙, 侯晨丽, 徐冰, 等. 苜蓿对农田耗水过程与盐变化的影响[J]. *农业机械学报*, 2019, 50(7): 291-301.
TIAN Delong, HOU Chenli, XU Bing, et al. Effect of alfalfa on water consumption process and salt changes in fields[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2019, 50(7): 291-301. (in Chinese with English abstract)
- [3] 王雪萌, 张涵, 宋瑞, 等. 中美牧草种子生产比较[J]. *草地学报*, 2021, 29(10): 2115-2125.
WANG Xuemeng, ZHANG Han, SONG Rui, et al. Comparison of forage seed production between China and U.S.A[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(10): 2115-2125. (in Chinese with English abstract)
- [4] 毛培胜, 侯龙鱼, 王明亚. 中国北方牧草种子生产的限制因素和关键技术[J]. *科学通报*, 2016, 61(2): 250-260.
MAO Peisheng, HOU Longyu, WANG Mingya. Limited factors and key technologies of forage seed production in the northern of China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2016, 61(2): 250-260. (in Chinese with English abstract)
- [5] 陈乙实, 娜丽克斯·外里, 王树林, 等. 不同处理方法对7种豆科植物种子休眠以及成苗特性的影响[J]. *草地学报*, 2017, 25(4): 823-831.
CHEN Yishi, NARKES Wali, WANG Shulin, et al. Effect of different treatment methods on seed dormancy and seedling characteristics of seven kinds of leguminous plants[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(4): 823-831. (in Chinese with English abstract)
- [6] 闫银发, 韩守强, 周盛祥, 等. 极低频高压脉冲电场提高陈年棉种活力的参数优化[J]. *农业工程学报*, 2017, 33(22): 301-307.
YAN Yinfa, HAN Shouqiang, ZHOU Shengxiang, et al. Parameter optimization on improving aged cotton seeds vigor by extremely low frequency high voltage pulsed electric field[J]. *Transactions of the Chinese society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2017, 33(22): 301-307. (in Chinese with English abstract)
- [7] 王德成, 贺长彬, 武红剑, 等. 苜蓿生产全程机械化技术研究现状与发展分析[J]. *农业机械学报*, 2017, 48(8): 1-25.
WANG Decheng, HE Changbin, WU Hongjian, et al. Review of alfalfa full-mechanized production technology[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48(8): 1-25. (in Chinese with English abstract)
- [8] SATRANSKY M, CAPOUCHOVA I, BURESOVA B, et al. Effects of various poppy seed pre-sowing treatments on the dynamics of field emergence, structure of yield parameters, oil content and yield of seed[J]. *Plant Soil and Environment*, 2022, 68(11): 533-541.
- [9] PRIATAMA R A, PERVITASARI A N, PARK S, et al. Current advancements in the molecular mechanism of plasma treatment for seed germination and plant growth[J]. *International journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9): 4609.
- [10] 邵长勇, 王德成, 唐欣, 等. 冷等离子体处理对紫花苜蓿种子萌发及田间长势的影响[J]. *农业机械学报*, 2016, 47(3): 138-143.
SHAO Changyong, WANG Decheng, TANG Xin, et al. Effects of low-temperature plasma on seed germination characteristics and growth condition in field of alfalfa[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2016, 47(3): 138-143. (in Chinese with English abstract)
- [11] SIVACHANDIRAN L, KHACEF A. Enhanced seed

- germination and plant growth by atmospheric pressure cold air plasma: Combined effect of seed and water treatment[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(4): 1822-1832.
- [12] NISHIOKA T, TAKAI Y, KAWARADANI M, et al. Seed disinfection effect of atmospheric pressure plasma and low pressure plasma on *Rhizoctonia solani*[J]. *Biocontrol Science*, 2014, 19(2): 99-102.
- [13] 邵长勇, 方宪法, 唐欣, 等. 冷等离子体处理对大葱种子发芽特性的影响[J]. *农业机械学报*, 2013, 44(6): 201-205. SHAO Changyong, FANG Xianfa, TANG Xin, et al. Effects of low-temperature plasma on seed germination characteristics of green onion[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2013, 44(6): 201-205. (in Chinese with English abstract)
- [14] FENG J K, WANG D C, SHAO C Y, et al. Effects of cold plasma treatment on alfalfa seed growth under simulated drought stress[J]. *Plasma Science & Technology*, 2018, 20(3): 129-135.
- [15] MILDAZIENE V, IVANKOV A, SERA B, et al. Biochemical and physiological plant processes affected by seed treatment with non-thermal plasma[J]. *Plants-Basel*, 2022, 11(7): 856.
- [16] 齐先科, 李淼, 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. 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)
- [17] 邵长勇, 尤泳, 王光辉, 等. 冷等离子体处理对小麦幼苗特性的影响[J]. *农业机械学报*, 2013, 44(S2): 251-255. SHAO Changyong, YOU Yong, WANG Guanghui, et al. Effects of low-temperature plasma on characteristics of wheat seedling[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2013, 44(S2): 251-255. (in Chinese with English abstract)
- [18] 王永维, 曹林, 王俊, 等. 冷等离子体处理对水稻种子萌发的影响[J]. *农业机械学报*, 2013, 44(6): 206-209. WANG Yongwei, CAO Lin, WANG Jun, et al. Influence of cold plasma treatment on rice seed germination[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2013, 44(6): 206-209. (in Chinese with English abstract)
- [19] KHAMSEN N, ONWIMOL D, TEERAKAWANICH N, et al. Rice (*Oryza sativa* L.) seed sterilization and germination enhancement via atmospheric hybrid nonthermal discharge plasma[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(30): 19268-19275.
- [20] RECEK N, HOLC M, VESEL A, et al. Germination of *Phaseolus vulgaris* L. Seeds after a short treatment with a powerful RF plasma[J]. *International journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(13): 6672.
- [21] GUO Q, WANG Y, ZHANG H R, et al. Alleviation of adverse effects of drought stress on wheat seed germination using atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 16680.
- [22] BARJASTEH A, LAMICHHANE P, DEGHANI Z, et al. Recent progress of non-thermal atmospheric pressure plasma for seed germination and plant development: Current scenario and future landscape[J]. *Journal of Plant Growth regulation*, 2023, 42(9): 5417-5432.
- [23] 彭彦昆, 赵芳, 李龙, 等. 利用近红外光谱与 PCA-SVM 识别热损伤番茄种子[J]. *农业工程学报*, 2018, 34(5): 159-165. PENG Yankun, ZHAO Fang, LI Long, et al. Discrimination of heat-damaged tomato seeds based on near infrared spectroscopy and PCA-SVM method[J]. *Transactions of the Chinese society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2018, 34(5): 159-165. (in Chinese with English abstract)
- [24] 卢伟, 张孜谔, 蔡苗苗, 等. 基于光声光谱和 TCA 迁移学习的稻种活力检测[J]. *农业工程学报*, 2020, 36(22): 341-348. LU Wei, ZHANG Zixu, CAI Miaomiao, et al. Detection of rice seeds vigor based on photoacoustic spectrum combined with TCA transfer learning[J]. *Transactions of the Chinese society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2020, 36(22): 341-348. (in Chinese with English abstract)
- [25] 王冬, 王坤, 吴静珠, 等. 基于光谱及成像技术的种子品质无损速测研究进展[J]. *光谱学与光谱分析*, 2021, 41(1): 52-59. WANG Dong, WANG Kun, WU Jingzhu, et al. Progress in research on rapid and non-destructive detection of seed quality based on spectroscopy and imaging technology[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2021, 41(1): 52-59. (in Chinese with English abstract)
- [26] 惠云婷, 王德成, 唐欣, 等. 基于近红外光谱分析的高丹草种子发芽率检测研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2022, 42(2): 423-427. HUI Yunting, WANG Decheng, TANG Xin, et al. Detection of sorghum-sudan grass seed germination rate based on near infrared spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2022, 42(2): 423-427. (in Chinese with English abstract)
- [27] 张文浩, 侯龙鱼, 杨杰, 等. 高寒地区苜蓿人工草地建植技术[J]. *科学通报*, 2018, 63(17): 1651-1663. ZHANG Wenhao, HOU Longyu, YANG Jie, et al. Establishment and management of alfalfa pasture in cold regions of China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 63(17): 1651-1663. (in Chinese with English abstract)
- [28] HAKL J, PISARCIK M, FUKSA P, et al. Development of lucerne root morphology traits in lucerne-grass mixture in relation to forage yield and root disease score[J]. *Field Crops Research*, 2018, 226: 66-73.
- [29] PORCEL R, AROCA R, AZCON R, et al. Regulation of cation transporter genes by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice plants subjected to salinity suggests improved salt tolerance due to reduced Na^+ root-to-shoot distribution[J]. *Mycorrhiza*, 2016, 26(7): 673-684.
- [30] ALHIDARY I A, ABDELRAHMAN M M, ALYEMNI A H, et al. Effect of alfalfa hay on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing lambs with *ad libitum* access to total mixed rations[J]. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2016, 45(6): 302-308.
- [31] ZHAO C R, BAI A Z, REN J Q, et al. Effect of negative high-voltage corona field on hydrophilicity and vigor of *Astragalus mongolicus* seeds[J]. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 2022, 50(9): 2917-2925.
- [32] 要世瑾, 牟红梅, 杜光源, 等. 小麦种子吸胀萌发过程的核磁共振检测研究[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(11): 266-274. YAO Shijin, MOU Hongmei, DU Guangyuan, et al. Water imbibition and germination of wheat seed with nuclear magnetic resonance[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(11): 266-274. (in Chinese with English abstract)
- [33] 廖莹, 刘巍, 李军国, 等. 基于主成分分析的饲料级磷酸盐理化特性评价[J]. *农业工程学报*, 2024, 40(11): 299-306. LIAO Ying, LIU Wei, LI Junguo, et al. Ality evaluation of the

- physicochemical properties of feed grade phosphates based on principal component analysis[J]. *Transactions of the Chinese society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2024, 40(11): 299-306. (in Chinese with English abstract)
- [34] ZAHORANOVÁ A, HOPPANOVÁ L, ŠIMONČICOVÁ J, et al. Effect of cold atmospheric pressure plasma on maize seeds: Enhancement of seedlings growth and surface microorganisms inactivation[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2018, 38(5): 969-988.
- [35] PARK Y, OH K S, OH J, et al. The biological effects of surface dielectric barrier discharge on seed germination and plant growth with barley[J]. *Plasma Processes and Polymers*, 2018, 15(2): 1600056.
- [36] 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 Yuguang, 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)
- [37] 谢焕雄, 胡志超, 吴惠昌, 等. 低温等离子体活化水发生设备及其应用效果试验[J]. *农业工程学报*, 2021, 37(16): 260-269.
- XIE Huanxiong, HU Zhichao, WU Huichang, et al. Low temperature plasma-activated water generator and its application effect test[J]. *Transactions of the Chinese society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2021, 37(16): 260-269. (in Chinese with English abstract)
- [38] ITO M, OH J, OHTA T, et al. Current status and future prospects of agricultural applications using atmospheric-pressure plasma technologies[J]. *Plasma Processes and Polymers*, 2018, 15(2): 1700073.

Comprehensive evaluation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed vitality based on plasma treatment

WANG Decheng^{1,4}, HUANG Chen¹, YOU Yong^{1,4}, LIU Jinlong^{2,4}, HE Gang³,
ZHANG Yuzhuo¹, HUI Yunting^{1,4*}

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China; 2. Ningxia Qianyeqing Agricultural Science and Technology Development Co., Ltd, Shizuishan 753000, China; 3. Hohhot Branch of Chinese Academy of Agricultural Mechanization Sciences Co., Ltd, Hohhot 010010 China; 4. Key Laboratory of Machinery and Equipment for Forage Seed Production and Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shizuishan 753400, China)

Abstract: Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is one of the superior forage crops that is extensively cultivated in China. The surface of alfalfa seed is rich in dense hydrophobic wax-like substances, thus inhibiting water permeation, seed germination, and growth. Plasma treatment can serve as a physical seed treatment to promote seed germination and crop growth while offering environmental and economic advantages. In this study, the optimal conditions of plasma treatment were obtained to promote the growth of alfalfa. An improved model was constructed to clarify the actual effect of plasma treatment on alfalfa seeds. Zhongmu No. 4 was taken as the experimental material. The binary quadratic orthogonal rotation design was used to combine with germination tests. A systematic investigation was also made to explore the effects of plasma treatment power and treatment time on eight indicators of alfalfa seed germination, including seed germination potential, seed germination rate, seed conductivity, water absorption of the seed coat, seedling root length, seedling shoot length, seedling fresh mass, and seedling dry mass. The variance and principal component analysis were conducted to systematically evaluate the vigor of alfalfa seeds before and after plasma treatment. A mathematical model was established to integrate the plasma treatment power and treatment time with the comprehensive germination test index of alfalfa seeds, in order to seek an optimized condition of treatment plan. The results showed that the plasma treatment positively enhanced the vigor of alfalfa seeds; The variance analysis indicated that plasma treatment significantly ($P < 0.05$) increased the water absorption of seed coat (20.93%), seedling shoot length (16.05%), seedling fresh mass (18.57%), and seedling dry mass (18.39%). There was a significant ($P < 0.05$) decrease in the seed conductivity (28.86%), which was beneficial for the quality of alfalfa seeds. Principal component analysis was implemented to extract three main components with a cumulative contribution rate of 93.38%. A comprehensive evaluation model was established to explore the effects of plasma treatment on alfalfa seeds, according to the scores of the three principal components and their corresponding weights. The highest comprehensive score was achieved in the G12 experimental group (treatment power of 120 W, and treatment time of 12 s). Two factors (treatment power and treatment time) shared the threshold effect on the comprehensive germination test index of alfalfa, with the influence of treatment power greater than that of treatment time. There was no significant interactive effect of the two factors on the comprehensive germination test index of alfalfa ($P > 0.05$), indicating that the two factors were independent of each other, without substitution and counteraction. The processing conditions were optimized for the plasma treatment with a treatment power of 142 W and a treatment time of 16 s. Experimental verification showed that the comprehensive germination test index of alfalfa was 0.973 under the optimized treatment conditions, with a relative error of 2.83%, compared with the theoretical value of 0.955. An acceptable range of experimental error was achieved to further prove the rationality of the model. Therefore, the optimized conditions were obtained by the model for plasma treatment, indicating a quite reliable measurement. In summary, this finding can provide theoretical support to promote and apply the plasma seed treatment technology. A comprehensive evaluation was offered for the seed quality, which was a positive significance to promote the application of plasma in seed pre-sowing treatment.

Keywords: seed vigor; principal component analysis; plasma; *Medicago sativa* L