

# 外源硅对 PEG 渗透胁迫下黄瓜种子萌发及相关基因表达的影响

金 宁, 吕 剑\*, 郁继华\*, 颀建明, 金 莉, 张国斌, 冯 致

(甘肃农业大学园艺学院, 兰州 730070)

**摘 要:** 为探明硅缓解聚乙二醇 (PEG) 渗透胁迫抑制黄瓜种子萌发的调控机理, 以 ‘新春 4 号’ 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 种子为试材, PEG 模拟干旱胁迫, 以蒸馏水为对照, 研究硅处理 ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Si)、PEG 处理 (10% PEG)、PEG 与硅共处理 (PEG + Si) 对黄瓜种子萌发、膜脂过氧化、渗透调节、抗氧化酶系统及碳水化合物代谢的影响。结果表明, 与对照相比, 10% PEG 处理显著抑制黄瓜种子的萌发, 其发芽势、发芽率、芽苗全长及鲜质量显著降低, 丙二醛 (MDA) 和游离脯氨酸 (Pro) 含量显著升高, 抗氧化酶活性升高, PEG + Si 处理可显著缓解干旱胁迫对黄瓜种子萌发的抑制作用, 发芽势、芽苗全长及鲜质量显著大于 PEG 处理, MDA 及 Pro 的含量显著低于 PEG 处理, 抗氧化酶活性显著提高; 正常条件下, Si 处理黄瓜种子的发芽势、发芽率、芽苗全长、鲜质量、MDA 含量、Pro 含量以及抗氧化酶活性与对照均无显著差异。与对照相比, 在种子萌发 0~48 h, 10% PEG 处理的淀粉含量高而可溶性糖含量低, 同时降低了  $\alpha$ -淀粉酶和  $\beta$ -淀粉酶活性, 萌发 36 h 时, 黄瓜种子  $\alpha$ -淀粉酶 (AMY) 和  $\beta$ -淀粉酶 (BMY) 基因的表达水平显著下调; PEG + Si 处理显著降低了淀粉含量, 提高了可溶性糖含量、 $\alpha$ -淀粉酶和  $\beta$ -淀粉酶活性, 显著上调了 AMY 和 BMY 基因表达水平; Si 处理淀粉含量、可溶性糖含量、 $\alpha$ -淀粉酶和  $\beta$ -淀粉酶活性变化趋势与对照一致且无显著差异, 显著上调了 BMY 的基因表达, 对 AMY 无显著影响。可见, 在干旱胁迫下, Si 通过提高黄瓜种子抗氧化酶活性、淀粉水解酶活性、减少 MDA 积累量和上调 AMY、BMY 基因表达水平, 缓解了干旱胁迫对种子的脂质过氧化损伤, 提高了碳水化合物的转化速率, 促进种子萌发。

**关键词:** 黄瓜; 硅; 渗透胁迫; 种子萌发; 抗氧化酶; 淀粉酶活性

**中图分类号:** S 642.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2020) 01-0041-12

## Effect of Exogenous Silicon on Seed Germination and Expression of Related Genes in Cucumber under Osmotic Stress

JIN Ning, LÜ Jian\*, YU Jihua\*, XIE Jianming, JIN Li, ZHANG Guobin, and FENG Zhi

(College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to determine the mechanism involved in silicon mitigation of osmotic stress in cucumber (*Cucumis sativus* L. ‘Xinchun 4’) seed germination and seedling growth.

**收稿日期:** 2019-07-15; **修回日期:** 2019-09-10

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (31660584); 甘肃省科技重大专项计划项目 (17ZD2NA015); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-23-C-07); 甘肃省自然科学基金项目 (1610RJZA098); 甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金项目 (GSau-STS-1638)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: lvjian@gsau.edu.cn, yujihua@gsau.edu.cn)

Four treatments including distilled water (Control), silicon treatment (Si), PEG-6000 simulated drought stress (PEG) and PEG-6000 + Silicon (PEG + Si) were applied. The results showed that compared with the control, 10% PEG treatment significantly inhibited germination, seedling vigor, seedling length and fresh weight. Moreover, the contents of malondialdehyde (MDA), free proline (Pro) content and the activities of antioxidant enzymes increased under the sole PEG treatment. However, PEG + Si treatment significantly alleviated the osmotic stress in the cucumber seedlings. The PEG + Si treatment enhanced germination, increased seedling vigor, seedling length and fresh weight. Moreover, the activities of antioxidant enzymes of shoots were significantly greater than those of PEG treatment while the contents of MDA and Pro were significantly lower compared to the PEG treatment. The effect of sole Si treatment on germination, seedling vigor, seedling length, fresh weight, MDA content, Pro content and antioxidant enzyme activities was not significantly different from the control treatment. During cucumber seed germination, PEG treatment increased starch content but decreased the content of soluble sugar by down-regulating the Amylase (*AMY*) and  $\beta$ -amylase (*BMV*) gene expression levels at 36 h. However, the PEG + Si treatment significantly reduced starch content, increased soluble sugar content,  $\alpha$ -amylase activity and  $\beta$ -amylase activity, and significantly up-regulated the expression levels of *AMY* and *BMV* genes at 36 h after treatment. The changes in starch content, soluble sugar content,  $\alpha$ -amylase activity and  $\beta$ -amylase activity in the Si treated seedlings was not statistically different from the control seedlings. However, Si treatment significantly up-regulated *BMV* gene expression but did not affect the expression of *AMY*. It can be concluded that Si might alleviate the lipid peroxidation damage of cucumber seeds and accelerate the conversion of carbohydrates under drought stress by increasing the antioxidant enzyme activities, starch hydrolase activity, reducing MDA accumulation, and up-regulating the *AMY* and *BMV* gene expression levels for promoting the germination of cucumber seeds.

**Keywords:** cucumber; silicon; osmotic stress; seed germination; antioxidase activity; amylase activity

种子萌发期既是植物生活史上的关键阶段，也是进行植物抗旱性研究的重要时期（王赞 等，2008）。聚乙二醇 6000（PEG-6000）是一类不能通过细胞壁的大分子渗透调节物质，无毒、无刺激，具有良好的水溶性，对细胞毒性小，使植物组织和细胞处于类似于干旱胁迫之中（张立军 等，2004）。用 PEG-6000 造成的渗透胁迫来模拟干旱胁迫，已在红花（魏波 等，2018）、小麦（郑世英 等，2017）、大豆（高鑫宇 等，2016）等植物种子萌发研究上有较多报道。

硅（Si）是土壤中继氧之后含量最为丰富的第二大元素，但很少以游离形式存在，而多以复合物的形式存在（张雅珍 等，2016）。目前虽未证实硅是植物生长发育的必需元素，但近年来大量研究发现，硅对改善作物生长发育状况、提高作物对非生物逆境（干旱、盐分和重金属等）和生物逆境（病虫害）抗性、促进产量及品质的形成等多方面都发挥着重要的作用（Ma, 2001；范培培 等，2014）。更有研究表明，硅可显著提高小麦（Gong et al., 2003）、玉米（马成仓 等，2002）和黄瓜（闵红，2010）种子萌发过程中胚乳的蛋白酶、淀粉酶等酶活性，促进呼吸代谢，提高种子活力，促进种子萌发。

目前关于硅提高植物抗旱性的研究多集中在硅吸收量高的单子叶植物（如水稻等），而对硅积累量较少的双子叶植物（如黄瓜等）的研究相对较少，且这些研究大多集中在幼苗期或是生长发育

的后期, 而关于种子萌发阶段的文献报道较少。本试验中以黄瓜种子为试材, 以 PEG-6000 模拟干旱胁迫进行萌发试验, 旨在探明硅对干旱胁迫下黄瓜种子萌发过程中碳水化合物转化及其调控机理, 为硅元素在干旱半干旱地区蔬菜生产中的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料与试验设计

试验于 2018 年 8 月—11 月在甘肃农业大学园艺实验室进行, 供试材料为‘新春 4 号’黄瓜种子 (购于甘肃省农业科学院), 用聚乙二醇 6000 (PEG-6000) 模拟干旱胁迫, 通过添加化学试剂硅酸钠 ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ; AR) 进行硅处理。

选择饱满、大小均匀、无破损的种子, 用 5% 的次氯酸钠消毒 15 min, 蒸馏水洗涤 5 次, 28 °C 浸种 6 h, 在直径 9 cm 的培养皿中放置两层滤纸, 将黄瓜种子摆放在滤纸上, 每处理 3 次重复, 每重复 20 粒种子。分别加入 5 mL 不同的处理液, 在 25 °C 黑暗条件的人工气候箱中萌发, 每隔 24 h 称质量补充水分, 使处理间渗透胁迫浓度保持相对稳定。

(1) PEG-6000 质量浓度筛选: 设对照 (蒸馏水) 和 PEG 浓度 5%、10%、15%、20%。

(2) Si 浓度筛选: 设对照 (蒸馏水) 和 10% PEG 分别加 0、0.1、0.5、1、3、5、7 mmol · L<sup>-1</sup> Si。

(3) 对照 (蒸馏水)、Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>)、PEG (10%)、PEG + Si 处理。

每个处理溶液用 1 mol · L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调整 pH (6.2 ± 0.1)。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 萌发指标的测定

以胚根突破种皮长度达到种子全长的一半为发芽标准。每天统计发芽数, 48 h 时计算发芽势, 72 h 终止催芽, 计算发芽率。每个处理选取 6 株黄瓜芽苗 (3 组重复) 用直尺测量芽苗的全长 (从胚根底端到胚轴顶端); 用吸水纸吸干表面水分, 用电子天平称其鲜质量。

发芽率 (%) = 发芽种子数/供试种子数 × 100; 发芽势 (%) = 48 h 发芽种子数/供试种子数 × 100。

#### 1.2.2 丙二醛、游离脯氨酸含量和抗氧化酶活性的测定

催芽 36 h 后, 用 TBA 法 (Dhindsa et al., 1981) 测定丙二醛 (MDA) 含量; 用碘基水杨酸法 (Ma et al., 2016) 测定游离脯氨酸 (Pro) 含量。采用 NBT (氮蓝四唑) 法 (Song et al., 2009) 测定超氧化物歧化酶 (SOD); 采用愈创木酚 (guaiacol) 法测定过氧化物酶 (POD) 活性; 采用紫外吸收法 (Gunes et al., 2007) 测定过氧化氢酶 (CAT) 活性。

#### 1.2.3 可溶性糖、淀粉含量和淀粉酶活性的测定

萌发 0、4、8、12、24、36 和 48 h 采用蒽酮 - 乙酸乙酯法测定种子或芽苗组织中的可溶性糖和淀粉含量。

用  $\beta$  - 淀粉酶试剂盒 (北京北奥莱博科技有限公司) 测定总淀粉酶活性和  $\alpha$  - 淀粉酶活性, 进而计算出  $\beta$  - 淀粉酶活性。

#### 1.2.4 AMY ( $\alpha$ - 淀粉酶) 和 BMY ( $\beta$ - 淀粉酶) 基因表达量的测定

催芽 36 h 后, 选取各处理黄瓜芽苗为试验材料, 用 RNAsimple Total RNA Kit (TIANGEN) 离心柱型试剂盒提取总 RNA, 对 RAN 使用 Primer Script<sup>TM</sup> RT reagent Kit with gDNA Eeaser (TaKaRa) 试剂盒进行反转录获得 cDNA, 并用 SYBR Primer Ex Taq<sup>TM</sup> II (TaKaRa) 试剂盒进行定量分析。定

量 PCR 仪为 Light Cycler<sup>®</sup> 96 Real-Time PCR System (Roche, 瑞士)。

用 Primer5.0 设计引物, 由兰州瑞真生物技术有限公司合成, 内参  $\beta$ -actin 及各基因引物序列见表 1。

**表 1 实时定量 PCR 引物序列**  
**Table 1 Real-time quantitative PCR primer sequences**

基因 Gene	登录号 Accession No.	引物序列 (5' - 3') Primer pair
AMY	XM_004151148	F: CACGGTTATTACACCCAGGACT; R: TAAATCATCTTCGTTGCCCAT
BMV	XM_004138543	F: GGTGTCAAGTGGTAGCAACAATAAC; R: TGTCCTCTCTTCTCTTCTAATGGTCT
CsActin	AB010922.1	F: TTGAATCCCAAGGCGAATAG; R: TGCGACCACTGGCATAAAG

所有数据 Ct 值  $\leq 38$ , 阴性对照无扩增。根据 3 组试验数据, 利用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak & Schmittgen, 2001) 法, 计算 AMY、BMV 基因在不同样本中的相对表达量。

### 1.3 数据分析

试验数据运用 Microsoft Excel 2010 软件处理数据并作图, 用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA) 分析, 用 Duncan's 检验法对显著性差异 ( $P < 0.05$ ) 进行多重比较, 数据表示为平均值  $\pm$  标准误差。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度 PEG 处理对黄瓜种子萌发的影响

由表 2 可以看出, 随着 PEG 浓度的逐渐升高, 发芽势、发芽率均呈现先上升后下降的趋势, 而芽苗全长和鲜质量呈现逐渐下降的趋势。5% PEG 处理与对照无显著差异, 10%、15%、20% PEG 处理均显著低于对照。由于 20% PEG 处理对萌发的抑制过重, 15% PEG 处理使芽苗全长下降幅度过大, 因此, 选择中等胁迫浓度 10% 作为 PEG 的试验浓度。

**表 2 不同浓度 PEG 处理对黄瓜种子萌发的影响**  
**Table 2 Effects of different PEG concentrations on germination of cucumber seeds**

PEG/%	发芽势/% Germination energy	发芽率/% Germination rate	芽苗全长/cm Seedling length	鲜质量/g Fresh weight
0 (H <sub>2</sub> O)	86.67 $\pm$ 3.85 a	95.56 $\pm$ 2.22 a	6.42 $\pm$ 0.21 a	1.36 $\pm$ 0.12 a
5	95.56 $\pm$ 2.22 a	100.00 $\pm$ 0.00 a	5.82 $\pm$ 0.27 a	1.25 $\pm$ 0.05 a
10	68.89 $\pm$ 5.88 b	84.44 $\pm$ 0.00 b	3.77 $\pm$ 0.18 b	0.95 $\pm$ 0.07 b
15	64.44 $\pm$ 2.22 b	82.22 $\pm$ 2.22 b	1.91 $\pm$ 0.12 c	0.74 $\pm$ 0.02 bc
20	8.89 $\pm$ 2.22 c	22.22 $\pm$ 5.88 c	0.41 $\pm$ 0.04 d	0.60 $\pm$ 0.03 c

### 2.2 不同浓度 Si 处理对 10% PEG 渗透胁迫下黄瓜种子萌发的影响

由表 3 可知, 在 10% PEG 浓度模拟的干旱胁迫条件下, 随着 Si 处理浓度的不断增加, 黄瓜种子的发芽势、发芽率、芽苗全长及鲜质量均呈现先上升或无显著性变化后下降的趋势, 其中, 0.5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Si 处理的发芽势、发芽率及芽苗全长均显著高于单独 10% PEG 处理, 且发芽势及发芽率与对照差异不显著, 所以, 选定 0.5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 作为 Si 的试验浓度。

表 3 不同浓度 Si 处理对 10%PEG 渗透胁迫下黄瓜种子萌发的影响  
Table 3 Effects of different Si concentrations on germination of cucumber seeds under 10%PEG osmotic stress

PEG/%	硅 Si/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	发芽势/% Germination energy	发芽率/% Germination rate	芽苗全长/cm Seedling length	鲜质量/g Fresh weight
0	0	86.67 ± 3.85 a	93.33 ± 3.85 a	6.92 ± 0.12 a	1.70 ± 0.08 a
10	0	66.67 ± 3.85 b	80.00 ± 3.85 c	4.04 ± 0.30 d	1.11 ± 0.01 bc
10	0.1	71.11 ± 2.22 b	82.22 ± 4.44 b	4.41 ± 0.07 bc	1.11 ± 0.04 bc
10	0.5	82.22 ± 4.44 a	90.00 ± 1.92 ab	5.18 ± 0.50 b	1.21 ± 0.01 b
10	1	66.67 ± 3.85 b	76.67 ± 1.92 c	4.60 ± 0.24 bc	1.09 ± 0.02 c
10	3	60.00 ± 3.85 b	80.00 ± 0.00 c	3.91 ± 0.24 cd	1.08 ± 0.03 c
10	5	53.33 ± 0.00 c	73.33 ± 0.00 c	3.46 ± 0.10 dc	1.03 ± 0.02 c
10	7	55.56 ± 2.22 c	71.11 ± 5.88 c	2.86 ± 0.18 c	1.04 ± 0.02 c

2.3 外源硅对渗透胁迫下黄瓜种子萌发的影响

如图 1 所示, 在 10% PEG 模拟水分胁迫条件下, 黄瓜种子的发芽势、发芽率、芽苗全长及鲜质量较对照均显著降低, 而 PEG + Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 处理的发芽势、芽苗全长及鲜质量显著高 PEG 处理, 其增幅为 24.99%、51.58%、15.09%, 说明 PEG 模拟的水分胁迫条件下, 加入外源 Si 显著缓解了干旱胁迫下种子发芽势、芽苗长度及鲜质量的下降幅度; 但在正常条件下, 加入外源硅对黄瓜种子的发芽势、发芽率、芽苗全长及鲜质量影响均不显著。

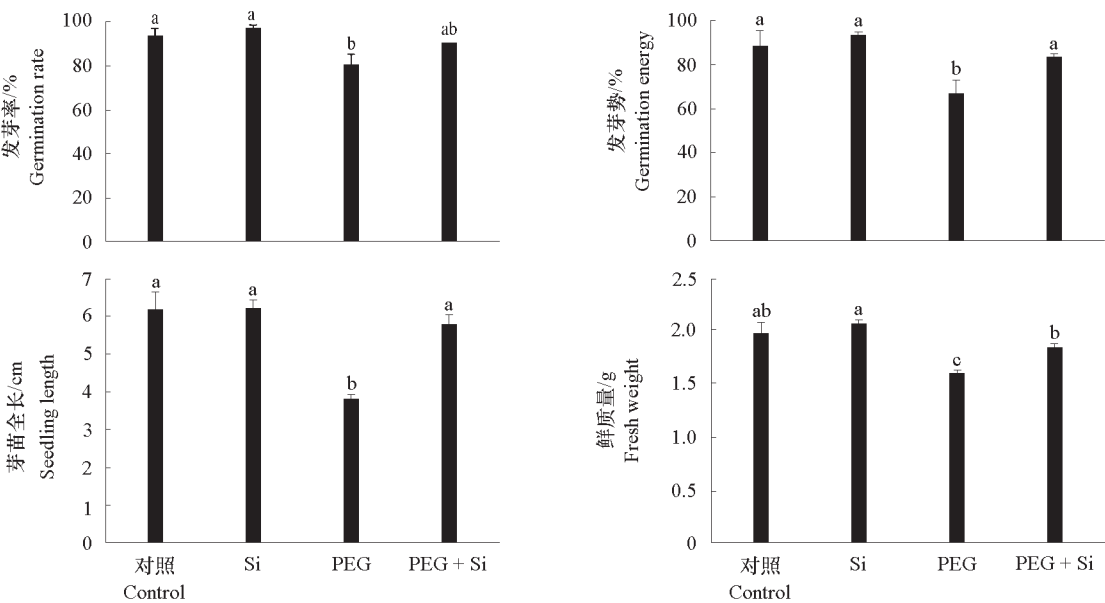


图 1 Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 对 PEG (10%) 渗透胁迫下黄瓜种子萌发特性的影响  
Fig. 1 Effect of Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) on seed germination of cucumber under PEG (10%) osmotic stress

2.4 外源硅对渗透胁迫下黄瓜种子萌发 36 h 后 MDA、Pro 含量和抗氧化酶活性的影响

由图 2 可以看出, 在 10% PEG 模拟的干旱胁迫条件下, 黄瓜种子萌发 36 h 时丙二醛 (MDA) 的含量相较于对照显著上升, 约是对照的 4 倍, 而 PEG + Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 处理可显著降低干旱胁迫下 MDA 的含量, 降低膜脂的过氧化程度; 而在正常条件下, 加入外源 Si 的 MDA 含量与对照

无显著性差异。在 PEG 模拟的干旱胁迫条件下, Pro 含量显著高于对照, 增幅为 40.97%, 而 PEG + Si 处理可显著降低干旱胁迫下黄瓜种子中 Pro 含量; 在正常条件下加入外源 Si, 种子 Pro 含量与对照也无显著差异。

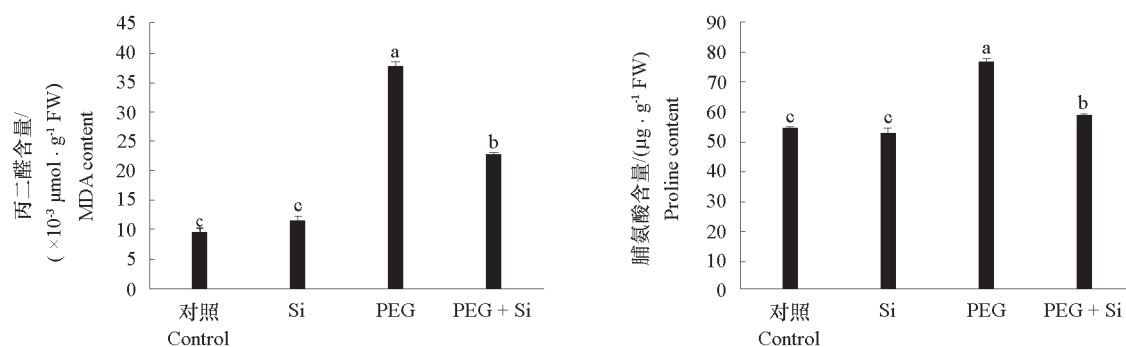


图2 Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 对 PEG (10%) 渗透胁迫下黄瓜种子 MDA 及脯氨酸含量的影响

Fig. 2 Effect of Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) on MDA and Pro contents in cucumber seeds under PEG (10%) osmotic stress

由图3可知,与对照相比,10% PEG 模拟的干旱胁迫条件下的黄瓜种子的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活性分别升高了 17.32%和 41.91%; 加入外源 Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 后进一步显著升高,相较于 PEG 处理,分别升高了 13.18%和 37.73%; 而在正常条件下,加 Si 与对照并无显著差异。过氧化氢酶(CAT)的活性在干旱胁迫条件下也显著升高,增幅为 36.96%,但 PEG + Si 处理与 PEG 处理无显著差异; 而在正常条件下加 Si 时,与对照仍无显著差异。

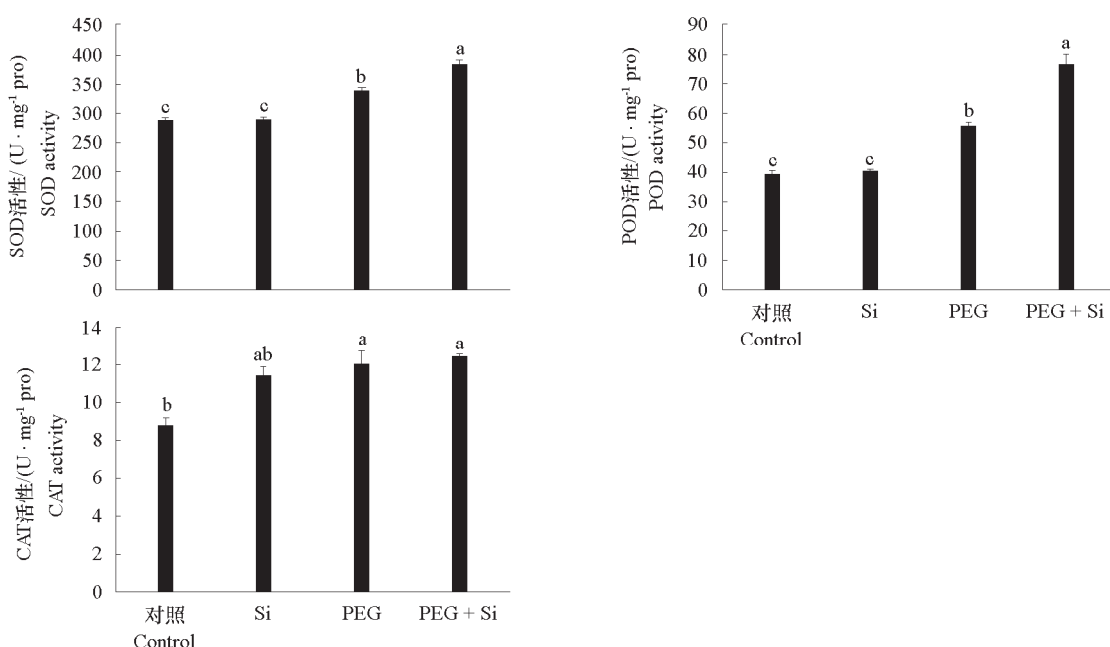


图3 Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) 对 PEG (10%) 渗透胁迫下黄瓜种子抗氧化酶活性影响

Fig. 3 Effect of Si (0.5 mmol · L<sup>-1</sup>) on antioxidant enzyme activities of cucumber seeds under PEG (10%) osmotic stress

## 2.5 外源硅对渗透胁迫下黄瓜种子萌发过程中碳水化合物转化的影响

### 2.5.1 淀粉和可溶性糖含量的变化

结果(图4)表明,各处理的淀粉含量在4~8 h变化较为平稳,之后迅速下降。在整个萌发过程中,10% PEG 处理的淀粉含量始终高于其他3个处理;PEG + Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )处理、Si 处理与对照的变化趋势一致,且 Si 处理和对照间无显著差异。

各处理可溶性糖在0~8 h含量快速上升,之后缓慢下降。在整个萌发过程中,10% PEG 处理的可溶性糖含量显著低于其他3个处理;PEG + Si 处理、Si 处理与对照变化趋势一致, Si 处理与对照差异不显著。

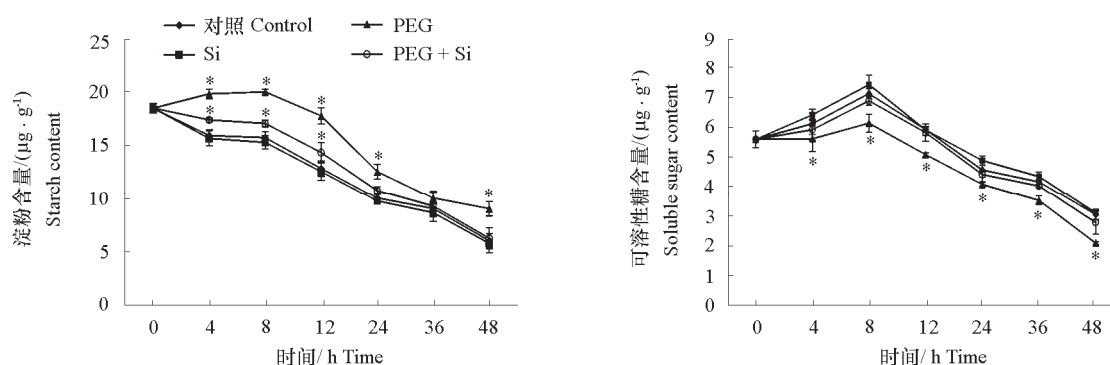


图4 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对 PEG (10%) 渗透胁迫下黄瓜种子萌发不同时间组织中淀粉及可溶性糖含量的影响

Fig. 4 Effect of Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on the contents of starch and soluble sugar in cucumber seed germination at different time under PEG (10%) osmotic stress

### 2.5.2 淀粉酶活性的变化

图5表明,各处理的 $\alpha$ -淀粉酶在黄瓜种子的整个萌发过程中呈先升高后下降的趋势。PEG(10%)

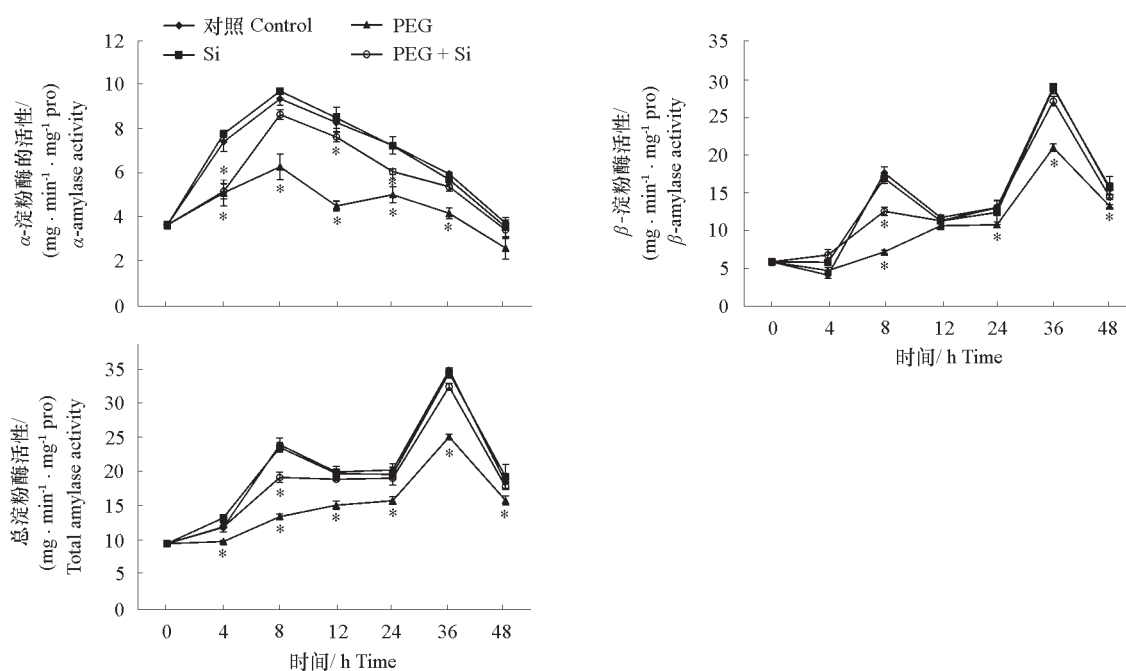


图5 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对 PEG (10%) 渗透胁迫下黄瓜种子萌发不同时间组织中总淀粉酶、 $\alpha$ -、 $\beta$ -淀粉酶活性的影响

Fig. 5 Effect of Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on total amylase,  $\alpha$ -,  $\beta$ -amylase activities in cucumber seed germination at different time under PEG (10%) osmotic stress

模拟的干旱胁迫显著降低了  $\alpha$ -淀粉酶的活性, 而 PEG + Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 显著增加了种子萌发 8~48 h 过程中的酶活性; 而在正常条件下单施 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 与对照差异不显著。

总淀粉酶活性和  $\beta$ -淀粉酶活性的变化趋势一致。PEG (10%) 模拟的干旱胁迫显著降低了种子萌发 8~48 h 的总淀粉酶活性和  $\beta$ -淀粉酶活性, 而施加 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 显著缓解了这一现象, 即与 PEG 处理相比, 酶活性显著增加; 在正常条件下单施 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 与对照无显著性差异。

### 2.5.3 AMY 及 BMV 的表达水平

结果 (图 6) 表明, PEG (10%) 模拟的干旱胁迫显著下调了 AMY 及 BMV 的基因表达量, 与对照相比分别下调了 84.89% 和 74.76%, 而外源添加 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 与 PEG 处理相比分别上调了 269.96% 和 280.98%; 在正常条件下, 与对照相比, 加入外源 Si 对 AMY 没有显著的影响, 但显著上调了 BMV 的相对表达量, 上调了 13.04%。

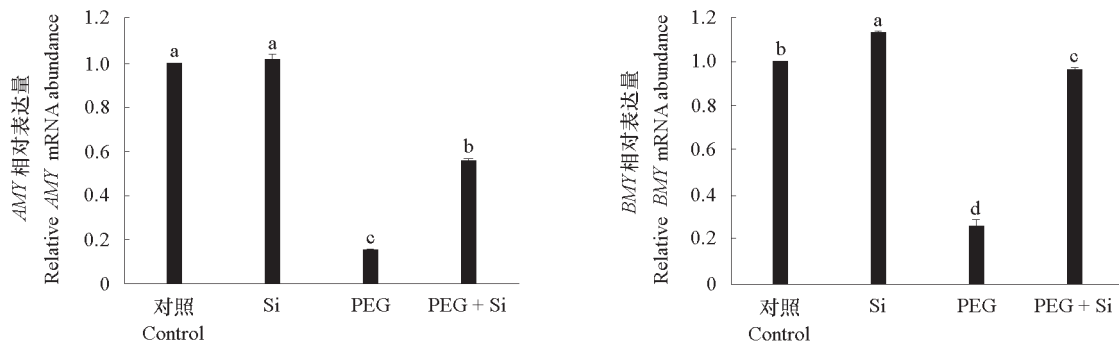


图 6 Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对 PEG (10%) 渗透胁迫下黄瓜种子萌发 36 h 时 AMY 和 BMV 基因表达水平的影响  
Fig. 6 Effect of Si ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on the expression of AMY and BMV genes in cucumber seeds germination for 36 h under PEG (10%) osmotic stress

## 3 讨论

在种子萌发过程中, 胚根通常是最先接触到干旱环境, 本试验结果表明, 10% PEG 浓度介导的干旱胁迫显著抑制了黄瓜种子的正常萌发, 降低了黄瓜种子的发芽势、发芽率、芽苗全长及鲜质量, 这和吴淼等 (2017) 和魏波等 (2018) 在紫花苜蓿及红花种子萌发的研究结果一致。本试验还显示在水分胁迫条件下, 加 Si 可以缓解水分胁迫对种子萌发的抑制作用, 显著地增加了黄瓜种子的发芽势、发芽率、芽苗全长及鲜质量, 表明加 Si 促进了水分胁迫下黄瓜种子的萌发, 正如赵红等 (2010) 和 Biju 等 (2017) 在水稻和扁豆等农作物的研究结果相同。因此, 若在黄瓜直播生产中减少灌溉水量的同时施用硅肥, 既可以保证发芽率, 又可以节约用水, 这为硅肥在干旱和半干旱地区的应用提供一定的理论指导和技术支持。

逆境胁迫下, 膜脂过氧化是抑制种子萌发的生理原因之一 (Yang et al., 2010)。MDA 是一类稳定的脂质过氧化产物, 其含量可以反映植物遭受氧化胁迫的程度 (Gong et al., 2008)。Gong 等 (2005) 的研究表明, 加入外源 Si 增加了干旱胁迫条件下小麦叶片的抗氧化物质的含量, 同时降低了 MDA 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量, 本试验结果也证明, 在模拟干旱胁迫条件下, 加 Si 显著降低了 MDA 的含量, 缓解了膜脂过氧化造成的伤害。植物应对干旱胁迫一个常见的抗旱机制就是过度产生不同类型的渗透调节物质, 如脯氨酸等。本试验中, 为了抵抗干旱胁迫, 造成了渗透调节物质 Pro 的过量积累, 显



著高于对照, 外源施加 Si 后显著降低了 Pro 的产生。植物具有有效清除活性氧的抗氧化防御系统, SOD、POD、CAT 等是植物防御膜质过氧化的重要保护酶, 作物抗旱性的大小与其抗氧化及抵抗膜质过氧化的能力有关, 抗旱性强的品种其抗氧化酶活性也高, 这是它具有较强抗旱性的重要原因 (宫海军 等, 2004)。有报道称, 在干旱和盐胁迫条件下, Si 通过增加抗氧化的防御能力来缓解胁迫条件对作物的影响 (Liang et al., 2003; Zhu, 2004)。本试验结果显示, 在 PEG 模拟的干旱胁迫下, 黄瓜芽苗中 SOD、POD 及 CAT 的活性均显著上升, 表明黄瓜芽苗组织中活性氧的含量上升, 刺激抗氧化防御系统中抗氧化酶活性上升, 用以清除活性氧对组织造成的伤害, 加入外源 Si 进一步诱导了抗氧化酶活性的增强, 有利于活性氧的快速清除, 减少其对细胞的损伤, 这与在干旱胁迫条件下, 施加外源 Si 对草莓 (王耀晶 等, 2013) 及肥皂草 (杨慧颖 等, 2017) 抗氧化酶系统的影响一致。表明外源 Si 能通过提高黄瓜种子的抗氧化酶水平, 有效清除自由基, 从而缓解了干旱胁迫导致的膜脂过氧化伤害, 这是 Si 提高黄瓜种子对干旱胁迫适应性的又一重要机制。

种子萌发所需的能量主要来源于种子自身储存干物质 (淀粉、脂肪等) 的分解转化 (Gill et al., 2003), 而淀粉是其中最主要的供能物质, 种子中储藏物质淀粉的代谢主要由一系列水解酶来完成, 淀粉酶是水解淀粉、糖原的酶类总称 (Akazawa & Hara-Nishimura, 1985), 分为  $\alpha$ -淀粉酶和  $\beta$ -淀粉酶。本试验中, 在种子的萌发过程中, 10% PEG 处理与对照相比, 显著抑制了黄瓜种子的  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶的活性, 使得黄瓜种子和芽苗具有较高的淀粉含量和较低的含糖量。类似的报道有, Bialecka 和 Kępczyński (2010) 的研究称 PEG 诱导的干旱胁迫显著降低了尾穗苋种子萌发过程中  $\alpha$ -、 $\beta$ -淀粉酶的活性, Kaur 等 (1998, 2000)、Zeid 和 Shedeed (2006) 的研究也表明 PEG 诱导的干旱胁迫降低了鹰嘴豆子叶  $\alpha$ -淀粉酶以及萌发的紫花苜蓿种子中的  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶活性。本研究中外源 Si 显著地提高了干旱胁迫条件下  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶的活性, 促进淀粉转化为可溶性糖, 为黄瓜种子的萌发与生长提供能量基础。Ma 和 Takahashi (2002) 的报道中同样提到, 外源 Si 能够提高淀粉酶的活性, 促进淀粉的水解速率, 为玉米种子萌发提供能量物质, 促进玉米幼苗的生长。此外, 本研究结果表明,  $\alpha$ -淀粉酶活性在黄瓜种子萌发初期快速升高, 而  $\beta$ -淀粉酶活性升高的速度较慢, 这可能与  $\alpha$ -淀粉酶的激活和表达是由胚芽合成的赤霉素 (GA) 所诱导有关 (Okamoto & Akazawa, 1979)。大量研究表明, GA 可诱导谷物种子糊粉层  $\alpha$ -淀粉酶活化 (Gubler & Jacobsen, 1992; Lanahan et al., 1992; Tregear et al., 1995)。为了验证 PEG 诱导的干旱胁迫和 Si 对  $\alpha$ -和  $\beta$ -淀粉酶的 RNA 的表达水平, 试验测定了黄瓜种子萌发 36 h 时各处理的 *AMY* 和 *BMV* 相对表达量。结果表明, 10% PEG 模拟的干旱胁迫显著下调了种子萌发 36 h 时 *AMY* 和 *BMV* 的相对表达量; 而添加外源 Si 显著上调了种子萌发 36 h 时 *AMY* 和 *BMV* 的相对表达量。以上结果和  $\alpha$ -、 $\beta$ -淀粉酶的生理活性变化趋势一致, 表明外源 Si 显著提高了干旱胁迫条件下黄瓜种子萌发期淀粉水解酶的活性。

在正常条件下, 施加外源 Si 可促进种子萌发在白燕麦 (Toledo et al., 2011)、琉璃苣 (Torabi et al., 2012) 等作物上已有报道, 但在本研究中并没有发现加 Si 对黄瓜种子萌发有促进作用。另外, 在周秀杰等 (2010) 对黄瓜幼苗的研究中发现, 在正常供水的条件下, 加 Si 可提高幼苗叶片抗氧化酶的活性, 但在本研究中, 加入外源 Si, 黄瓜种子的 SOD、POD 和 CAT 酶活性与对照无显著差异, 这说明, 在正常条件下加 Si 对植物的影响, 可能与植物的种类、品种以及所处的生育期等有关。同时, 在本试验中, 模拟干旱条件下施加外源 Si 显著提高了黄瓜种子和芽苗的抗氧化酶活性和淀粉酶活性, 并且显著上调了 *AMY* 和 *BMV* 的表达水平; 而在正常条件下施加外源 Si 各项指标与对照均无显著差异。Ma 和 Yamaji (2008) 的研究也表明, 硅能增强植物对外界生物和非生物因子胁迫的抗逆能力, 这种有利影响在胁迫条件下表现更为突出, 而在非逆境条件下通常不明显。本研究结果与

之一致。

综上, 外源添加 Si 显著缓解黄瓜种子萌发过程中 PEG 诱导的干旱胁迫, 表现在提高种子发芽势和发芽率, 促进芽苗的伸长、增加芽苗的鲜质量。同时, Si 显著增加了淀粉酶活性以及可溶性糖含量, 上调 *AMY* 和 *BMV* 相对表达水平, 这表明 Si 可能参与黄瓜种子萌发过程中 PEG 诱导干旱胁迫条件下的淀粉代谢或生理活性代谢, 并且外源 Si 对黄瓜种子萌发的有利影响在干旱逆境条件下比正常条件下更明显, 为硅肥在干旱和半干旱地区的开发利用提供了理论依据。

## References

- Akazawa T, Hara-Nishimura I. 1985. Topographic aspects of biosynthesis, extracellular secretion, and intracellular storage of proteins in plant cells. *Annual Review of Plant Physiology*, 36 (1): 441 – 472.
- Bialecka B, Kępczyński J. 2010. Germination,  $\alpha$ -,  $\beta$ -amylase and total dehydrogenase activities of *Amaranthus caudatus* seeds under water stress in the presence of ethephon or gibberellin A3. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52 (1): 7 – 12.
- Biju S, Fuentes S, Gupta D. 2017. Silicon improves seed germination and alleviates drought stress in lentil crops by regulating osmolytes, hydrolytic enzymes and antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119: 250 – 264.
- Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32 (1): 93 – 101.
- Fan Pei-pei, Zhu Zhu-jun, Yu Chao, Wang Hua-sen. 2014. Progress in research of physiological function and transport mechanisms of silicon in cucumber. *Plant Physiology Journal*, 50 (2): 117 – 122. (in Chinese)
- 范培培, 朱祝军, 于超, 王华森. 2014. 黄瓜中硅的生理功能及转运机制研究进展. *植物生理学报*, 50 (2): 117 – 122.
- Gao Xin-yu, Liu Li-jun, Liu Bo, Ma Yu-ling, Wang Rui-qi, Dong Shou-kun. 2016. Effect of drought stress simulated by PEG on antioxidant enzyme activities and antioxidant capacity in soybean. *Soybean Science*, 35 (4): 616 – 619, 636. (in Chinese)
- 高鑫宇, 刘丽君, 刘博, 马玉玲, 王瑞奇, 董守坤. 2016. PEG 模拟干旱对大豆抗氧化酶活性及抗氧化能力的影响. *大豆科学*, 35 (4): 616 – 619, 636.
- Gill P K, Sharma A D, Singh P, Bhullar S S. 2003. Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 40 (2): 157 – 162.
- Gong H, Chen K, Chen G, Wang S, Zhang C. 2003. Effects of silicon on growth of wheat under drought. *Journal of Plant Nutrition*, 26 (5): 1055 – 1063.
- Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C. 2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 169 (2): 313 – 321.
- Gong H J, Chen K M, Zhao Z G, Chen G C, Zhou W J. 2008. Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. *Biologia Plantarum*, 52 (3): 592 – 596.
- Gong Hai-jun, Chen Kun-ming, Wang Suo-min, Zhang Cheng-lie. 2004. Advances in silicon nutrition of plants. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 24 (12): 2385 – 2392. (in Chinese)
- 宫海军, 陈坤明, 王锁民, 张承烈. 2004. 植物硅营养的研究进展. *西北植物学报*, 24 (12): 2385 – 2392.
- Gubler F, Jacobsen J V. 1992. Gibberellin-responsive elements in the promoter of a barley high-pI  $\alpha$ -amylase gene. *The Plant Cell*, 4 (11): 1435 – 1441.
- Gunes A, Inal A, Bagci E G, Coban S, Pilbeam D J. 2007. Silicon mediates changes to some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown under B toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113 (2): 113 – 119.
- Kaur S, Gupta A K, Kaur N. 2000. Effect of GA<sub>3</sub>, kinetin and indole acetic acid on carbohydrate metabolism in chickpea seedlings germinating under water stress. *Plant Growth Regulation*, 30 (1): 61 – 70.
- Kaur S, Gupta A K, Kaur N. 1998. Gibberellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chickpea. *Plant Growth Regulation*, 25 (1): 29 – 33.

- Lanahan M B, Ho T H, Rogers S W, Rogers J C. 1992. A gibberellin response complex in cereal alpha-amylase gene promoters. *The Plant Cell*, 4 (2): 203 - 211.
- Liang Y, Chen Q, Liu Q, Zhang W, Ding R. 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology*, 160 (10): 1157 - 1164.
- Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*, 25 (4): 402 - 408.
- Ma Cheng-cang, Li Qing-fang, Shu Liang-zuo, Zhang Jing-yu. 2002. Preliminary explanation of the mechanism about effects of silicon on maize seed germination and seedling growth. *Acta Agronomica Sinica*, 28 (5): 665 - 669. (in Chinese)
- 马成仓, 李清芳, 束良佐, 张经余. 2002. 硅对玉米种子萌发和幼苗生长作用机制初探. *作物学报*, 28 (5): 665 - 669.
- Ma D Y, Sun D X, Wang C Y, Qin H X, Ding H N, Li Y G, Guo T C. 2016. Silicon application alleviates drought stress in wheat through transcriptional regulation of multiple antioxidant defense pathways. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35 (1): 1 - 10.
- Ma J F. 2001. Role of root hairs and lateral roots in silicon uptake by rice. *Plant Physiology*, 127 (4): 1773 - 1780.
- Ma J F, Takahashi E. 2002. Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan. Amsterdam: Elsevier.
- Ma J F, Yamaji N. 2008. Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65 (19): 3049 - 3057.
- Min Hong. 2010. The study of mechanisation of contionuous cropping in greenhouse[Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 闵 红. 2010. 大棚蔬菜连作障碍机理研究[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Okamoto K, Akazawa T. 1979. Enzymic mechanisms of starch breakdown in germinating rice seeds 7. Amylase formation in the epithelium. *Plant Physiology*, 63 (2): 336 - 340.
- Song A, Li Z, Zhang J, Xue G, Fan F, Liang Y. 2009. Silicon-enhanced resistance to cadmium toxicity in *Brassica chinensis* L. is attributed to Si-suppressed cadmium uptake and transport and Si-enhanced antioxidant defense capacity. *Journal of Hazardous Materials*, 172 (1): 74 - 83.
- Toledo M Z, Garcia R A, Merlin A, Fernandes D M. 2011. Seed germination and seedling development of white oat affected by silicon and phosphorus fertilization. *Scientia Agricola*, 68: 18 - 23.
- Torabi F, Majd A, Enteshari S. 2012. Effect of exogenous silicon on germination and seedling establishment in *Borago officinalis* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (12): 1896 - 1901.
- Tregear J W, Primavesi L F, Huttly A K. 1995. Functional analysis of linker insertions and point mutations in the  $\alpha$ -Amy2/54 GA-regulated promoter. *Plant Molecular Biology*, 29 (4): 749 - 758.
- Wang Yao-jing, Ma Cong, Zhang Wei, Liu Ming-da. 2013. Effects of silicon on strawberry growth and physiological characteristics under drought stress. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 27 (5): 703 - 707. (in Chinese)
- 王耀晶, 马 聪, 张 薇, 刘鸣达. 2013. 干旱胁迫下硅对草莓生长及生理特性的影响. *核农学报*, 27 (5): 703 - 707.
- Wang Zan, Li Yuan, Wu Xin-ming, Gao Hong-wen, Sun Gui-zhi. 2008. Study on germination characteristics and drought-resistance evaluation of *Dactylis glomerata* L. under osmotic stress. *Chinese Journal of Grassland*, 30 (1): 50 - 55. (in Chinese)
- 王 赞, 李 源, 吴欣明, 高洪文, 孙桂芝. 2008. PEG 渗透胁迫下鸭茅种子萌发特性及抗旱性鉴定. *中国草地学报*, 30 (1): 50 - 55.
- Wei Bo, Li Dan-dan, Hou Kai, Zhang Hui-hui, Wu Wei. 2018. Comparative study on germination characteristics of safflower(*Carthamus tinctorius*) under PEG-6000 simulated drought stress. *Plant Physiology Journal*, 54 (6): 1137 - 1143. (in Chinese)
- 魏 波, 李丹丹, 侯 凯, 张慧慧, 吴 卫. 2018. PEG 模拟干旱条件下红花种子萌发特性的比较研究. *植物生理学报*, 54 (6): 1137 - 1143.
- Wu Miao, Liu Xin-bao, Ding Li-ren, Li Zhi-hua. 2017. Effects of silicon on germination and physiological characteristics of alfalfa under drought stress simulated by PEG. *Acta Agrestia Sinica*, 25 (6): 1258 - 1264. (in Chinese)
- 吴 淼, 刘信宝, 丁立人, 李志华. 2017. PEG 模拟干旱胁迫下硅对紫花苜蓿萌发及生理特性的影响. *草地学报*, 25 (6): 1258 - 1264.
- Yang Hui-ying, Deng Ya-nan, Xu Ling-xin, Yan Jun-xin. 2017. Effects of silicon on the antioxidant system and membrane stability of *Saponaria officinalis* under drought stress. *Acta Prataculturae Sinica*, 26 (10): 77 - 86. (in Chinese)
- 杨慧颖, 邓雅楠, 许凌欣, 严俊鑫. 2017. 干旱胁迫下硅对肥皂草抗氧化系统及膜质稳定性的影响. *草业学报*, 26 (10): 77 - 86.

- Yang Y, Liu Q, Wang G X, Wang X D, Guo J Y. 2010. Germination, osmotic adjustment, and antioxidant enzyme activities of gibberellin-pretreated *Picea asperata* seeds under water stress. *New Forests*, 39 (2): 231 - 243.
- Zeid I M, Shedeed Z A. 2006. Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biologia Plantarum*, 50 (4): 635 - 640.
- Zhang Li-jun, Fan Jin-juan, Ruan Yan-ye, Guan Yi-xin. 2004. Application of polyethylene glycol in the study of plant osmotic stress physiology. *Plant Physiology Communications*, 40 (3): 361 - 364. (in Chinese)
- 张立军, 樊金娟, 阮燕晔, 关义新. 2004. 聚乙二醇在植物渗透胁迫生理研究中的应用. *植物生理学通讯*, 40 (3): 361 - 364.
- Zhang Ya-zhen, Wang Lin, Deng Cai-ping, Wang Ming-ming. 2016. Beneficial effects of silicon on drought tolerance in plants. *Hubei Agricultural Sciences*, 55 (10): 2449 - 2453. (in Chinese)
- 张雅珍, 王琳, 邓彩萍, 王明明. 2016. 硅对植物抗旱性影响的研究进展. *湖北农业科学*, 55 (10): 2449 - 2453.
- Zhao Hong, Luo Zhao-hui, Xia Jin-hua, Chu Qun-qun. 2010. Effects of Si and Cu on seed germination and seedling growth of rice. *Hunan Agricultural Sciences*, (21): 48 - 49. (in Chinese)
- 赵红, 罗朝晖, 夏瑾华, 褚群群. 2010. 硅、铜对水稻种子萌发及幼苗生长发育的影响. *湖南农业科学*, (21): 48 - 49.
- Zheng Shi-ying, Zheng Jian-feng, Xu Jian, Zheng Fang, Li Shi-ping, Zhang Nai-qin, Yu Ling-chun, Geng Jian-fen. 2017. Effects of exogenous silicon on plant growth and activity of anti-oxidative enzymes in wheat seedlings under drought stress. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 35 (2): 74 - 78. (in Chinese)
- 郑世英, 郑建峰, 徐建, 郑芳, 李士平, 张乃芹, 于凌春, 耿建芬. 2017. 外源硅对 PEG 胁迫下小麦幼苗生长及抗氧化酶活性的影响. *干旱地区农业研究*, 35 (2): 74 - 78.
- Zhou Xiu-jie, Zhao Hong-bo, Ma Cheng-cang. 2010. Studies on silicon increased drought resistance of cucumber seedlings. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 26 (9): 195 - 197. (in Chinese)
- 周秀杰, 赵红波, 马成仓. 2010. 硅提高黄瓜幼苗抗旱性的研究. *中国农学通报*, 26 (9): 195 - 197.
- Zhu Z J. 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167 (3): 527 - 533.