

接触辉光放电等离子体对枸杞种子萌发的促进作用及其处理工艺

李琬 龙海涛 许卫兵 薛华丽 曹文强 李昭弟 蒲陆梅
(甘肃农业大学理学院 兰州 730000)

摘要 为促进枸杞种子的萌发,探究接触辉光放电等离子体(CGDP)对枸杞种子萌发的影响及最佳处理工艺。以枸杞种子为研究对象,考察在不同处理时间、电压及电解质条件下CGDP对枸杞种子萌发的影响。在单因素实验的基础上,以种子发芽率、发芽指数、活力指数为指标,采用响应面优化处理种子工艺,通过种皮形貌观察与接触角测定,初步探讨了CGDP对种皮结构和性质的影响。结果表明:处理种子的最佳条件为处理时间15 min、电压550 V、电解质 Na_2SO_4 ,种子萌发率最高时为95.56%;处理后种皮变得平整、纹理模糊,种子亲水性增强;幼苗叶片中叶绿素含量提升。分析结果可知,辉光放电等离子体可通过改变种皮结构对枸杞种子的萌发及生长产生促进作用。

关键词 辉光放电等离子体,枸杞,种子萌发,叶绿素含量

中图分类号 Q691.5

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0103

Effects of contact glow discharge plasma on *Lycium barbarum* seed germination and seed treatment methodology

LI Wan LONG Haitao XU Weibing XUE Huali CAO Wenqiang LI Zhaodi PU Lumei
(College of Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT In order to promote the germination of *Lycium barbarum* seeds, the *Lycium barbarum* seeds were treated by contact glow discharge plasma (CGDP), the effects of CGDP on germination were explored under different treatment time, voltages, and electrolyte conditions. The seed treatment process was optimized by response surface optimization design based on seed germination rate and vigor indexes. The effects of CGDP on the structure and properties of the seed coat were preliminarily studied through the detecting changes in the morphology and the contact angle of the seed coat. The results showed that the optimized conditions for seed treatment were 15 min, voltage 550 V, Na_2SO_4 electrolyte, and the highest seed germination rate was 95.56%. After treatment, the seed coat becomes flat, the texture is blurred, and the hydrophilicity of the seeds is enhanced; the chlorophyll content in the leaves of seedlings increases. Therefore, glow discharge plasma treatment can promote the germination and growth of *Lycium barbarum* seeds.

KEYWORDS Glow discharge plasma, *Lycium barbarum*, Seed germination, Chlorophyll content

CLC Q691.5

基金资助: 国家自然科学基金(31860472)资助

第一作者: 李琬,女,1996年7月出生,2018年于四川师范大学获得学士学位,现为甘肃农业大学硕士研究生,化学专业

通信作者: 蒲陆梅,博士生导师, E-mail: pulm@gsau.edu.cn

收稿日期: 初稿 2022-10-09; 修回 2022-11-18

Supported by National Natural Science Foundation of China (31860472)

First author: LI Wan (female) was born in July 1996, and obtained her bachelor's degree from Sichuan Normal University in 2018.

Now she is a graduate student at Gansu Agricultural University, majoring in chemistry

Corresponding author: PU Lumei, doctoral supervisor, E-mail: pulm@gsau.edu.cn

Received 09 October 2022; accepted 18 November 2022

枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 别名山枸杞、中宁枸杞、津枸杞、明目子等, 为茄科枸杞属落叶灌木, 主要分布于我国西北与华北地区, 约有 80 多种。主要功效为滋肾、养肝、润肺等, 枸杞种皮结构致密, 透水性较差。田间播种和室内预备试验表明, 枸杞具有硬实休眠特性, 种子吸水困难, 萌发率较低^[1]。因此, 在种子播种前应该对其先进行处理, 以打破休眠状态, 提高发芽率。目前, 促进枸杞种子萌发的方式主要有机械磨皮、热水浸种、硫酸浸泡。机械磨皮可能会造成种子损伤; 酸浸泡与热处理促进种子的萌发效果因品种及处理措施而异, 如若处理不当, 会导致种子丧失发芽能力。在用硫酸浸泡时, 若处理时间过长, H_2SO_4 的强氧化性会使种子碳化, 且利用化学药剂还会造成土壤污染^[2]。因此, 对种子进行安全且不污染环境的改良处理尤其重要。近年来, 等离子体技术在种子播种前处理方面的应用越来越广泛。其处理方式有效地避免了化学试剂对种子的伤害, 为减少农药使用量, 减轻环境的污染提供了新的解决方案。

等离子体, 也称为物质的第四态, 是一种部分或完全电离的气体, 包含热和非热等离子体。热等离子体达到数千开尔文的温度, 并出现在太阳、照明、电火花、托卡马克等环境中, 因此, 不适用于生物应用。非热等离子体, 也称为低温或冷等离子体, 在接近环境温度下发生, 高动能仅存储在电子中^[3]。它的医学应用非常广泛, 其中包括消毒、加速血液凝固及改善伤口和感染愈合、牙科应用和癌症治疗^[4]。在过去几年中, 非热等离子体在农业和植物生物学中的使用也得到了广泛报道。其中涉及到种子的杀菌、表面特性的修饰、代谢组学途径和酶活性, 增强种子萌发和初始生长^[5]。

接触辉光放电等离子体 (Contact glow discharge plasma, CGDP) 是一种新兴的电化学方法。属非热等离子体, 与电解液面接触的电极在高压直流电的作用下发生辉光放电, 在溶液中产生 $\cdot OH$ 、 O_3 、 H_2O_2 、 O_2^- 、 H_2O^+ 、 OH^- 等高能活性粒子, 从而诱导溶液中物质发生反应。目前, 在聚合中应用^[6]、废水处理^[7]、毒素降解^[8]、苜蓿种子萌发^[9] 等都有研究, 但对于影响枸杞种子萌发的研究还未见报道。本文通过响应面实验设计 CGDP 不同因素对于枸杞种子发芽率、发芽指数、活力指数的影响, 优化 CGDP 处理枸杞种子的工艺。进而为促进枸杞种子萌发提供一种高效、实用的处理方式。也为 CGDP 处理促进枸杞种子萌发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 CGDP 实验装置

实验装置由直流稳压稳流电源 (北京大华无线电仪器厂) 组成, 该电源可以提供 0~1 000 V 电压和 0~1 A 电流。接触辉光放电等离子体发生器 (自制, 示意图见图 1^[10]), 其直径 0.5 cm 的铂丝为阳极, 直径 1 cm 的石墨棒为阴极, 外部设备冷却水装置控制反应温度。为使种子与等离子体活性成分充分接触, 电解过程中用 DF-101S 恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限责任公司) 促使搅拌子不断搅拌。

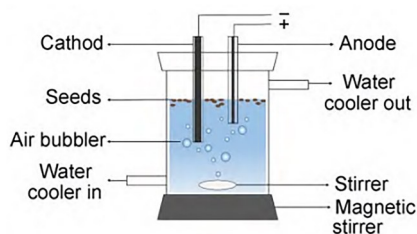


图1 实验装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of experimental equipment

仪器: TU-1901 紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); HH-4 数显恒温水浴锅 (江苏金坛市荣华仪器厂); JSM-5510LV 型扫描电子显微镜; 恒温恒湿光照箱; SDC-200S 接触角测量仪。

试剂: 无水硫酸钠、氯化钠、氯化钾、甲醛, 均为分析纯。

1.2 方法

枸杞种子从市场购买的宁夏枸杞一号枸杞鲜果中分离得到。挑选饱满的枸杞种子, 先用 75% 乙醇溶液浸泡, 再使用 2% $HClO$ 溶液浸泡 5 min 后用蒸馏水洗净, 于室温下晾干备用。

1.2.1 CGDP 处理

单因素实验: 在 550 V 电压、 Na_2SO_4 电解质条件下不同处理时间 3 min、6 min、9 min、12 min、15 min、18 min; 在 15 min、 Na_2SO_4 电解质条件下不同电压 510 V、530 V、550 V、570 V; 550 V 电压、处理 15 min 条件下不同电解质 Na_2SO_4 、 $NaCl$ 、 KCl 。以研究电压、时间、电解质对枸杞种子萌发的影响。

1.2.2 种子萌发

采用纸上发芽法对种子进行培养, 在 9 cm 直径的培养皿中铺入双层滤纸, 并用移液管移取 3.5 mL

无菌水,每个培养皿中均匀置入30粒处理过的枸杞种子(未经等离子体装置处理的为对照组),用封口膜封闭以防止水分蒸发,置于恒温恒湿光照箱中进行培养(16 h光照,8 h黑暗),光照箱光照强度为 $54 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,温度为 $25 \text{ }^\circ\text{C}$,每天补充无菌水以保证水分充足,设置三组平行实验。

1.2.3 萌发状况及数据分析

培养7 d,每日记录种子发芽数,萌发以胚芽突破种皮为标准。连续3 d没有新增发芽数为止。记录并计算种子的发芽率,种子发芽率(G_t)以发芽种子数占总种子数百分比表示($M \pm SD$)。发芽率(G_t)、发芽指数(G_i)、活力指数(V_i)见式(1)、(2)、(3)。

$$G_t = N_t \times 100\% / N_s \quad (1)$$

$$G_i = \sum N_{t_i} / D_i \quad (2)$$

$$V_i = G_i \times L_i \quad (3)$$

式中: N_t 为7 d的发芽数; N_s 为种子 t 天发芽数; D_i 为相应的发芽日数; N_s 为供试种子数; L_i 为苗长,mm。

1.2.4 种皮观察和接触角测定

(1)种子经过干燥后,用导电胶带均匀地粘到铜台上,220 V,40 mA的条件下对样品进行喷金,然后用JSM-5510LV型扫描电子显微镜在15 kV的高压下进行观察、拍照。(2)使用SDC-200S接触角测量仪测量枸杞种子使用等离子体处理前后的接触角,利用座滴法进行测量,测量范围为 $0^\circ \sim 180^\circ$,测量精度为 $\pm 0.1^\circ$,光学系统为自动聚焦($\pm 6 \text{ mm}$)6倍变焦透镜。

1.2.5 幼苗长势记录及叶绿素测定

随机各取处理组和对照组10株被移栽培养30 d的幼苗进行株高和叶片数量测量。

使用丙酮提取法^[11]进行叶绿素提取,取移栽培养30 d的枸杞幼苗 1 cm^2 叶片切成细丝放入装有5 mL 80%丙酮溶液的试管中避光至叶片细丝完全变为白色。使用紫外可见分光光度计(TU-1901)在波长645 nm和663 nm读取光密度。按Arnon公式计算提取液的叶绿素浓度(C_v , mg/mL),具体见式(4)~(6)。

$$C_{\text{hla}} = 12.7A_{663} - 2.69A_{645} \quad (4)$$

$$C_{\text{h1b}} = 22.9A_{645} - 4.86A_{663} \quad (5)$$

$$C_v = C_{\text{hla}} + C_{\text{h1b}} \quad (6)$$

式中: C_{hla} 、 C_{h1b} 、 C_v 分别为叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素质量浓度; A_{645} 、 A_{663} 为波长645 nm、663 nm下的光

密度。

1.2.6 响应面优化

结合单因素试验结果,以处理时间、电压、电解质种类为自变量,以 G_t 和 V_i 为响应值,运用Design Expert11软件,进行3因素3水平的响应面试验,确定各因素的最佳值,从而得出等离子体处理枸杞种子的最佳条件。试验因素及水平设计如表1所示。

表1 Box-Behnken实验因素与水平
Table 1 Factors and level of Box-Behnken experiment

水平 Level	A / V	B / min	C
-1	530	10	NaCl
0	550	15	Na ₂ SO ₄
1	570	20	KCl

1.3 数据处理与分析

每组数据设置三组平行,使用Excel进行数据计算,Desian-Expert11进行响应面设计并进行方差分析,Origin2021软件绘图,SPSS26软件对数据进行多重比较分析显著性, $p < 0.05$ 认为差异显著,具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 时间、电压、电解质对萌发指标的影响

种子萌发相关指标 G_t 、 G_i 、 V_i 随各因素变化见图2。由图2(a)可知,随着处理时间的增加,各指标呈先上升后下降的趋势,处理时间15 min时分别为对照组的1.20倍、1.70倍和4.07倍,但在超过15 min后,各项指标开始下降。Runtzel^[12]的研究也证明了类似的结果,在处理5 min后黑豆的萌发速度加快,并增加了下胚轴和胚根的长度,但在长时间处理(20~30 min)后会出现负面影响,种子发芽速率降低,这与我们的结论一致。Mitra等^[13]的研究表明,鹰嘴豆的发芽率、发芽速率、枝条和根长、幼苗干重和活力指数仅在较短的处理时间增加。这种结果是由于CGDP产生的活性氧(ROS)和活性氮(RNS)过量,而ROS和RNS在调节种子萌发期间的脱落酸(ABA)分解代谢和赤霉素(GA)生物合成方面发挥着重要作用,过量会引起负面效果^[14-15]。综上所述,15 min为最佳的处理时间。

由图2(b)可知,电压对萌发指标有明显影响,处理电压为550 V时,发芽率、发芽指数、活力指数分别为对照组的1.235倍、1.389倍和2.185倍,而在

电压 570 V 时,各项指标均低于对照组。在较低电压时,等离子体对种子萌发有促进作用,而较高电压则会抑制种子的萌发。此结果与王敏^[16]对于生菜种子的研究结果一致,在低电压处理时的抗氧化酶活性升高,电压较高时则效果不明显。等离子体可以通过调节抗氧化酶活性来清除 ROS^[17],在减少氧化损伤方面起着重要作用,有助于植物保持正常的生理代谢活动。若电压过大,则会产生过量的 ROS,过量会破坏脂质、损害核酸、破坏碳水化合物及蛋白质^[18],因此,处理的最佳电压为 550 V。

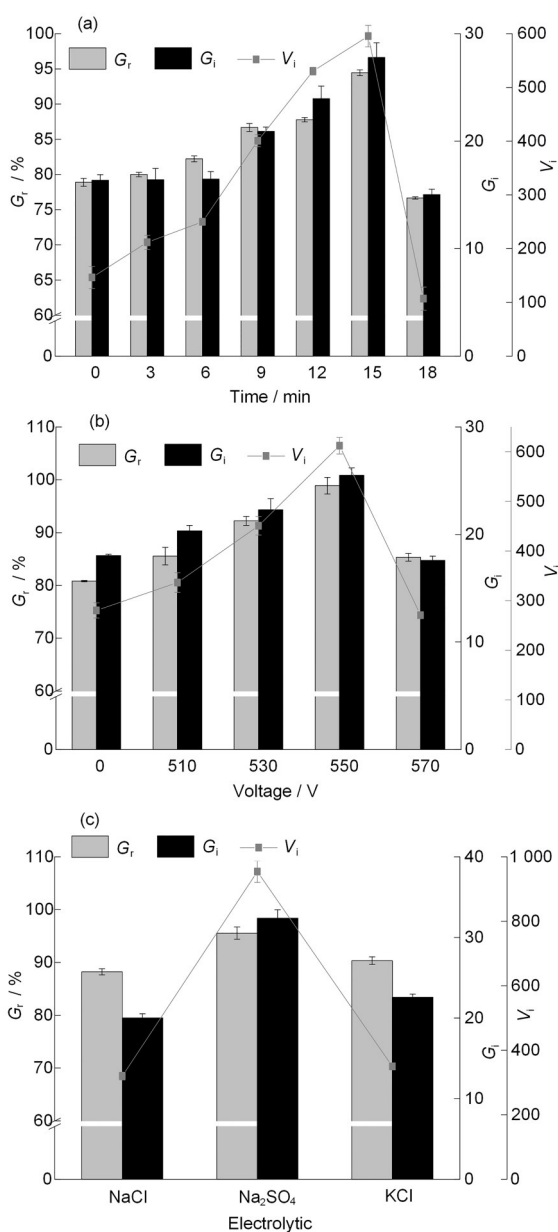


图2 单因素对枸杞种子萌发指标的影响:(a)时间;(b)电压;(c)电解质

Fig.2 Effects of single factor on germination index of *Lycium barbarum*: (a) time; (b) voltage; (c) electrolytic

在使用电解质为 Na₂SO₄ 时,各项萌发指标都有显著提升。而用 NaCl 和 KCl 做电解质时效果欠佳,如图 2(c) 所示。这是因为等离子体活性物质中主要起作用物质为羟基自由基和 H₂O₂^[19],当氯离子存在时会发生如式(7)~(8)的反应^[20]。



反应(1)使羟基自由基浓度降低,羟基自由基是生成 H₂O₂ 的前驱体,这导致了 H₂O₂ 的生成速率减小。见式(9)、(10)。



H₂O₂ 还会经过反应(9)和(10)分解,导致体系中活性物质 H₂O₂ 减少。由于活性物质的减少使得萌发指标增长变低。综上所述,选择 Na₂SO₄ 为电解质为佳。

2.2 响应面设计

2.2.1 设计结果

利用 Design-Expert11 软件的 Box-Behnken 设计,以电压 A、时间 B、电解质 C 为响应变量,发芽率、活力指数为响应值 R₁、R₂,进行响应面实验,结果如表 2 所示。对表 2 数据进行多元二次回归拟合,回归方程为(11)和(12)。

$$Y_1 = 94.00 + 0.25A - 0.71B + 0.43C + 1.17AB + 1.11AC + 2.53BC - 1.29A^2 - 2.65B^2 - 5.48C^2 \quad (11)$$

$$Y_2 = 596.20 - 1.75A - 4.56B - 0.11C + 16.04AB - 3.00AC + 22.36BC - 105.38A^2 - 161.53B^2 - 226.75C^2 \quad (12)$$

2.2.2 响应面交互分析

两个模型的失拟项 p 分别为 0.637 4 和 0.401 8,均大于 0.05,即失拟项差异不显著,表明该二次回归模型能够显著拟合处理时电压、时间、电解质对枸杞种子发芽率和活力指数的影响。回归方程中各项方差分析中 F 检验可以判断自变量对因变量的影响,各因素对于发芽率影响的主次顺序为时间(B)、电解质(C)、电压(A),一次项 B 对于 G_r 的影响达到显著水平,交互项 BC、二次项 B²、C² 达到极显著水平(p < 0.000 1)。影响活力指数主次顺序为时间(B)、电解质(C)、电压(A),交互项 BC 影响达到显著水平,二次项 A²、B²、C² 达到极显著水平。根据结果可知,响应值和实验值的关系是各因素见交互作用的结果。

表2 响应面设计方案及结果
Table 2 Box-Behnken design and results

编号 Number	A / V	B / min	C	R ₁	R ₂
1	-1	-1	0	91.333 3	346.713
2	1	-1	0	90.000 0	320.114
3	-1	1	0	87.777 8	306.376
4	1	1	0	91.111 1	343.953
5	-1	0	-1	87.777 8	256.360
6	1	0	-1	85.555 6	249.853
7	-1	0	1	86.666 7	284.298
8	1	0	1	88.888 9	265.792
9	0	-1	-1	88.888 9	246.460
10	0	1	-1	82.222 2	191.746
11	0	-1	1	84.444 4	179.377
12	0	1	1	87.912 0	214.098
13	0	0	0	94.444 4	605.356
14	0	0	0	94.444 4	595.438
15	0	0	0	93.333 3	580.363
16	0	0	0	94.444 4	620.587
17	0	0	0	93.333 3	579.246

表3 回归模型方差分析
Table 3 Analysis of variance of regression model

响应值 Response value	方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	F值 F value	p值 p value
G _r	Model	218.01	9	24.22	78.07	< 0.000 1
	A-电压 A-Voltage	0.50	1	0.50	1.61	0.244 9
	B-时间 B-Time	3.98	1	3.98	12.83	0.009 0
	C-电解质 C-Electrolyte	1.50	1	1.50	4.84	0.063 6
	AB	5.44	1	5.44	17.55	0.004 1
	AC	4.94	1	4.94	15.92	0.005 3
	BC	25.68	1	25.68	82.75	< 0.000 1
	A ²	7.06	1	7.06	22.74	0.002 0
	B ²	29.57	1	29.57	95.29	< 0.000 1
	C ²	126.59	1	126.59	408.00	< 0.000 1
	残差 Residual	2.17	7	0.310 3	-	-
	失拟项 Lack of fit	0.690 5	3	0.230 2	0.6214	0.637 4
	纯误差 Pure error	1.48	4	0.370 4	-	-
总离差 Cor total	220.18	16	-	-	-	
V _i	模型 Model	4.150×10 ⁵	9	4 6115.37	136.65	< 0.000 1
	A-电压 A-Voltage	24.62	1	24.62	0.073 0	0.794 9
	B-时间 B-Time	166.45	1	166.45	0.493 2	0.505 2
	C-电解质 C-Electrolyte	0.091 0	1	0.091 0	0.000 3	0.987 4
	AB	1 029.66	1	1 029.66	3.05	0.124 2
	AC	35.99	1	35.99	0.106 6	0.753 5
	BC	1 999.65	1	1 999.65	5.93	0.045 1

续表

响应值 Response value	方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	F值 F value	p值 p value
	A^2	4 6754.69	1	46 754.69	138.55	< 0.000 1
	B^2	1.099×10^5	1	1.099×10^5	325.55	< 0.000 1
	C^2	2.165×10^5	1	2.165×10^5	641.48	< 0.000 1
	残差 Residual	2 362.27	7	337.47	-	-
	失拟项 Lack of fit	1 144.89	3	381.63	1.25	0.401 8
	纯误差 Pure error	1 217.39	4	304.35	-	-
	总离差 Cor total	4.174×10^5	16	-	-	-

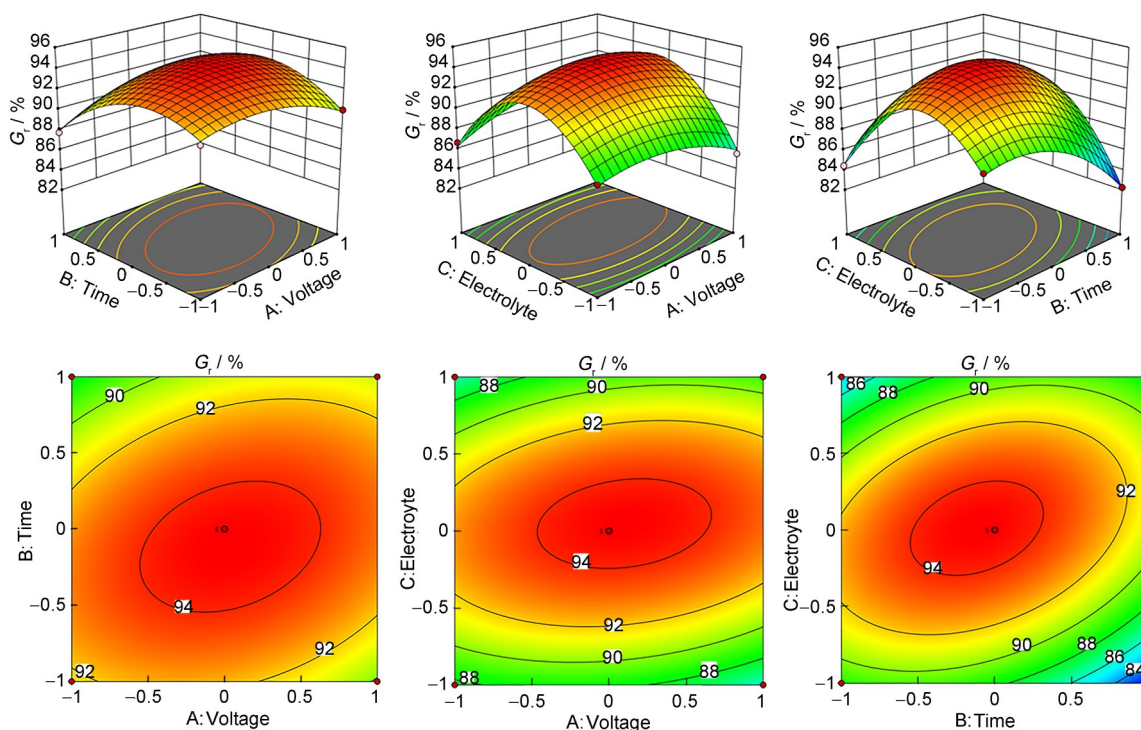


图3 各种因素交互作用对发芽率影响的等高线和响应面
Fig.3 Contour and response surface diagram of the interaction of various factors on germination rate

图3中时间与电解质交互作用响应面坡度最陡,表明BC交互作用对发芽率影响最大。图4中BC交互作用面图最陡峭证明对于活力指数的影响最大的是时间与电解质交互作用。这与方差分析的结果一致。

2.2.3 最佳条件验证

由响应面优化得出的最佳条件为:时间14.73 min,电压550.3 V,电解质 Na_2SO_4 ,在该条件下发芽率和活力指数预测值为94.04%和595.86。综

合实际情况考虑,调整最佳处理工艺为:时间15 min,电压550 V,电解质 Na_2SO_4 。采用最佳条件进行实验所得的萌发指数数据如图5所示。在最佳条件下经过等离子体处理后发芽率从83.33%提高到95.56%,提高了14.6%;活力指数增长到对照组的1.86倍,为654.24;萌发指数也有所提高,处理后再提高到对照组的1.48倍。各项指标和预测值相符,与对照组相比均有显著增加,证明使用该模型进行响应面实验优化处理工艺是合理的。

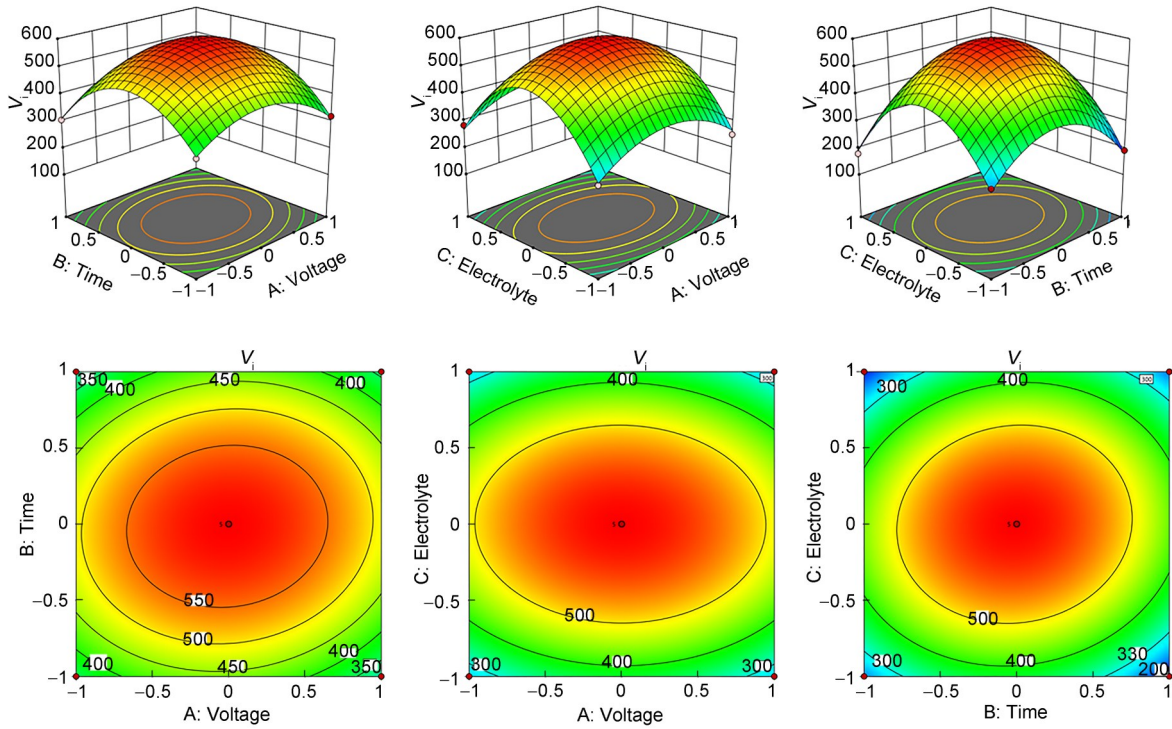


图4 各种因素交互作用对活力指数影响的等高线和响应面
Fig.4 Contour and response surface diagram of the interaction of various factors on the vigor index

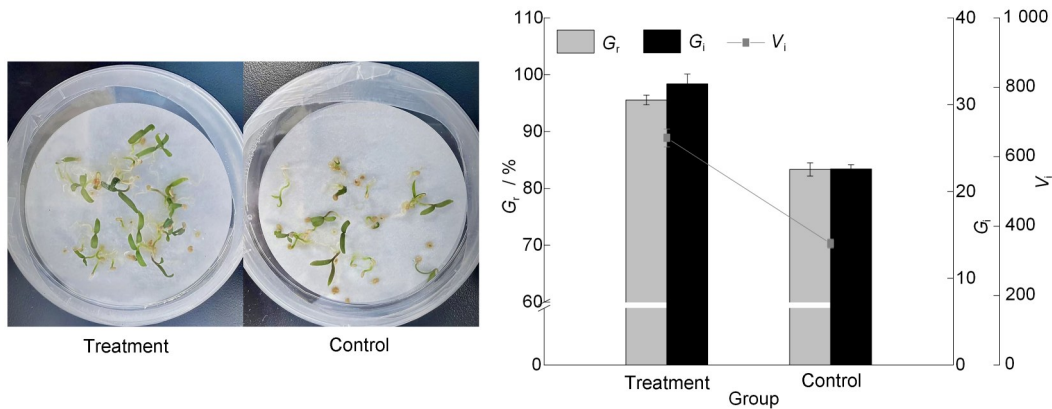


图5 验证试验种子的萌发参数
Fig.5 Seed germination parameters for verification test

2.3 CGDP对接触角的影响

接触角越大亲水性越差，而接触角越小则亲水性越好。当接触角小于 90.0° 时，认为表面为亲水性。如图6所示，未经处理的种子表面平均接触角为 106.863° ，在等离子体处理后平均接触角降低到了 83.165° ，种子变得亲水。由图7可见CGDP处理对接触角的影响，根据接触角的变化可知，等离子体对表面的主要影响是表面能的降低，从而提高了润湿

性和亲水性^[21]。在Bormashenko等^[22]的研究中，使用冷等离子体处理数十秒后，扁豆种子的接触角降低，并且它们的吸水性显著增加，TOF-SIMS光谱显示，等离子体处理种子表面含氧和含氮基团的浓度显著增加。将种子的湿润性变化与等离子体处理下其表面的氧化联系起来是合理的。这和我们的研究结果一致。种皮亲水性增强导致种子吸水性变好，最终促进种子萌发。



图6 接触辉光放电等离子体处理前后接触角测量图像:(a)对照组;(b)处理组;CA表示接触角
 Fig.6 Contact angle measurement images before and after treatment with CGDP:
 (a) control; (b) treatment; CA stands for contact angle

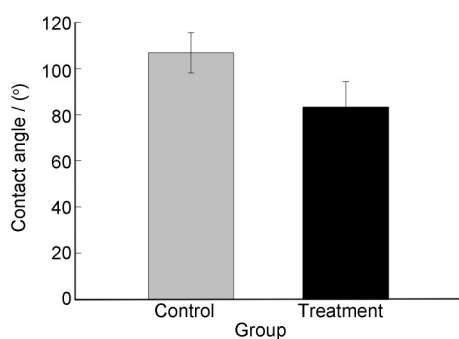


图7 接触辉光放电等离子体对种子表面接触角的影响
 Fig.7 Effects of CGDP treatment on seed surface contact angle

2.4 种皮形貌观察

枸杞种皮坚硬,结构致密,透水性较差。在扫描电镜下可以清晰观察到其表面的形态,未经等离子体处理的种皮结构致密,并且有起伏的纹路。而经过等离子体处理后的种子表皮变得平整,表面突起的纹路变得扁平且纹理模糊,还出现破裂。之前的研究表明,等离子体处理种皮作用可能导致活性物质渗透到种子中,这会影响生理反应、种子萌发和生长^[23-24]。我们的结果表明,在等离子体处理后,种皮的形态发生了变化,具体见图8。

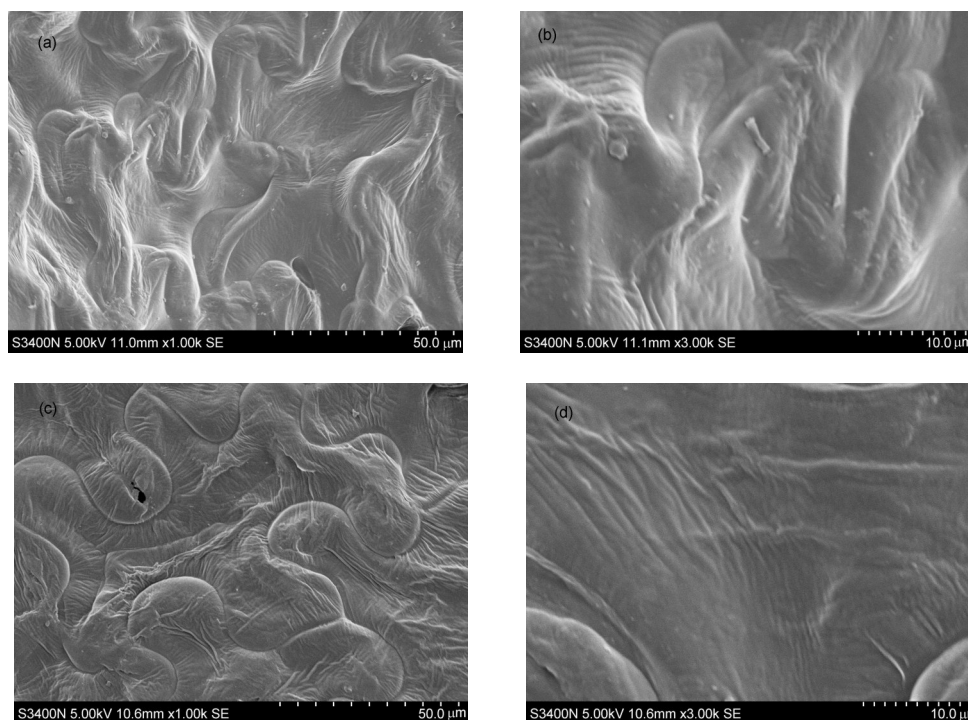


图8 接触辉光放电等离子体对枸杞种皮微观结构的影响:(a)、(b)分别为放大倍数1 000倍和3 000倍下对照组种子表面的扫描电镜图像;(c)、(d)分别为对应处理组的图像

Fig.8 Effects of contact glow discharge plasma treatment on seed coat morphology: (a) and (b) are SEM images for the untreated *Lycium barbarum* seed surface at magnifications of 1 000 × and 3 000 ×, respectively; (c) and (d) are corresponding images after 15 min plasma treatment

由图8可知,在使用CGDP进行种子处理时,活性粒子产生了化学蚀刻效果^[25]。植物的种皮阻碍其吸水能力,影响种子萌发^[26]。我们观察到,经过CGDP处理后,枸杞种皮发生了变化,这可能能够促进枸杞种子萌发过程中的吸水性;在Filatova等^[27]研究中,冷等离子体处理可以增强几种种子的吸水性。Bormashenko等^[22]发现,通过等离子体处理燕麦种皮会影响其润湿性、吸水性和发芽率。另外,处理后枸杞种皮表面出现破裂,接触角降低,种子变得亲水。表明CGDP处理能促进种子吸收更多的水分和营养物质,从而促进其萌发。

2.5 CGDP对幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素是植物光合作用系统中的主要成分^[28]。叶绿素浓度的变化对光合作用过程和光合产物的直接积累有影响^[29-30]。CGDP处理对于培养30 d的枸杞幼苗生长情况影响见图9;对叶绿素浓度的影响见图10。

与对照组相比,幼苗长势明显更优。平均株高从10.7 cm提高到13.4 cm,平均叶片数从9片提高到12片。叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量在CGDP处理后显著增加到原来的1.28倍、1.86倍和1.45倍。Roy等^[31]的研究也得到类似结果,在对小麦的研究中,作者使用空气/氧气等离子体分别处理小麦种子6 min、9 min后,与对照组相比叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素的含量都有增加且提高了植物的磷合成效率,使小麦的生长得到改善。CGDP处理后,可使光合色素含量增加且提高种子的生理活性,促

进植物光合作用,改善植物的生长。CGDP对于种子萌发生长影响示意图见图11。

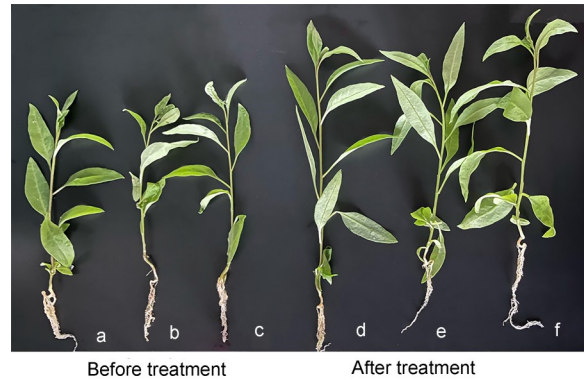


图9 CGDP处理前(a,b,c)和处理后(d,e,f)移栽培养30 d幼苗生长情况

Fig.9 Seedlings growth after transplanting for 30 d before (a, b, c) and after (d, e, f) CGDP treatment

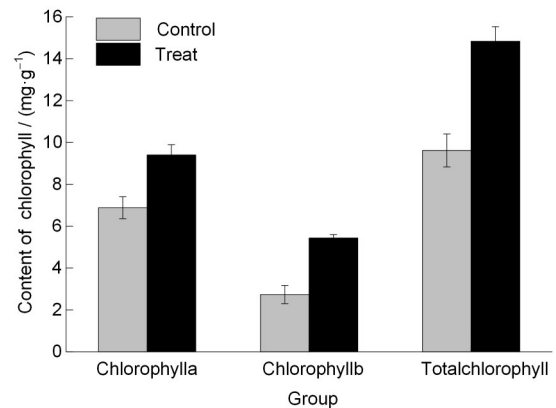


图10 CGDP对枸杞叶片中叶绿素含量的影响
Fig.10 Effects of CGDP on chlorophyll content in *Lycium barbarum* leaves

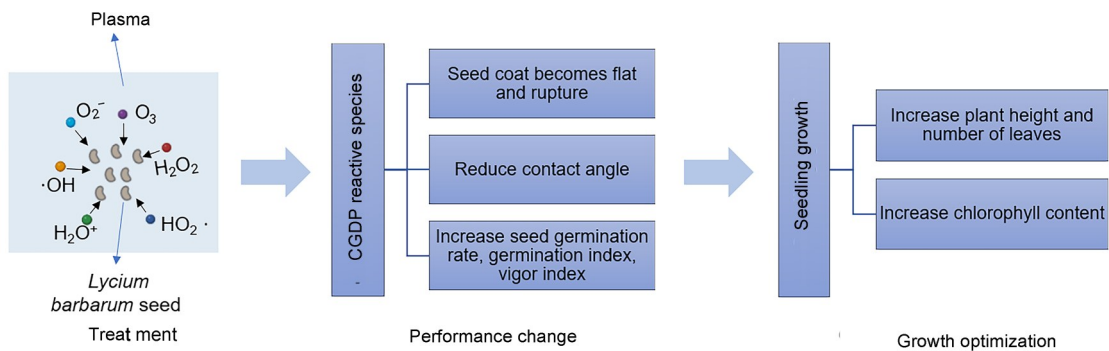


图11 接触辉光放电等离子体对种子萌发生长影响示意图
Fig.11 Schematic diagram of the effects of CGDP on seed germination and growth

3 结论

本文研究了CGDP处理对于枸杞种子萌发的促进作用。影响种子萌发的三个因素为产生等离子体的电压、电解质和处理种子时间。确定CGDP处理枸

杞种子的最佳处理工艺:电压550 V、电解质Na₂SO₄和处理时间15 min,在此条件下,枸杞种子萌发率提高到95.56%,活力指数为654.24。经过CGDP处理还可使种皮变得平整且出现破裂,亲水性增强,提

高种子的吸水能力,并且提高幼苗叶绿素含量,促进了种子的萌发和植物的生长。本研究表明,辉光放电等离子体是一种合理有效促进枸杞种子的萌发和幼苗生长的方法。且这种新方法有效地避免了化学试剂对种子的伤害,为减轻化学制剂对环境和植物体的污染提供了新的解决方案。CGDP对于枸杞抗氧化能力、内源激素含量影响等方面的研究有必要进一步深入探讨。结合PCR技术分析研究CGDP对相关基因表达的影响,进一步探究CGDP促进枸杞生长的机理是将来研究的重要方向。

作者贡献声明 李琬是本研究的实验设计者和执行人,并负责论文的撰写;龙海涛、薛华丽、许卫兵、曹文强、李昭弟参与实验和结果分析;蒲陆梅为通信作者,负责论文的最终修订、审阅及定稿等。所有作者均已阅读并认可该论文最终版本的所有内容。

参考文献

- 1 杨新才. 枸杞栽培历史与栽培技术演进[J]. 古今农业, 2006(3): 49-54.
YANG Xincui. Planting history and technical evolution of Chinese medlar[J]. Ancient and Modern Agriculture, 2006(3): 49-54.
- 2 Šerá B, Scholtz V, Jirešová J, *et al.* Effects of non-thermal plasma treatment on seed germination and early growth of leguminous plants—a review[J]. Plants (Basel), 2021, **10**(8): 1616. DOI: 10.3390/plants10081616.
- 3 Zhu Y L, *et al.* Feasibility of cold plasma for the control of biofilms in food industry[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, **99**: 142-151. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.03.001.
- 4 VON Woedtke T, Schmidt A, Bekeschus S, *et al.* Plasma medicine: a field of applied redox biology[J]. In Vivo (Athens, Greece), 2019, **33**(4): 1011-1026. DOI: 10.21873/invivo.11570.
- 5 Dubinov A E, Lazarenko E R, Selemir V D. Effect of glow discharge air plasma on grain crops seed[J]. IEEE Transactions on Plasma Science, 2000, **28**(1): 180-183. DOI: 10.1109/27.842898.
- 6 王爱香. 接触辉光放电电解等离子体的产生及其在聚合中的应用[D]. 兰州: 西北师范大学, 2008.
WANG Aixiang. Formation of contact glow discharge electrolysis plasma and its application in polymerization [D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2008.
- 7 王蕾, 李国新, 李岱霖, 等. 辉光放电等离子体氧化降解水中邻苯二甲酸二丁酯[J]. 环境工程学报, 2014, **8**(9): 3577-3584.
WANG Lei, LI Guoxin, LI Dailin, *et al.* Oxidative degradation of dibutyl phthalate induced by glow discharge plasma in aqueous solution[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, **8**(9): 3577-3584.
- 8 杜明远, 龙海涛, 田立鹏, 等. 辉光放电等离子体对硫色镰刀菌的杀菌作用[J]. 食品科学, 2020, **41**(17): 89-96.
DU Mingyuan, LONG Haitao, TIAN Lipeng, *et al.* Fungicidal effect of glow discharge plasma on fusarium sulphureum[J]. Food Science, 2020, **41**(17): 89-96.
- 9 徐毓鸿, 龙海涛, 王婷, 等. 接触辉光放电等离子体对紫花苜蓿种子萌发的促进作用及处理工艺[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2022, **40**(3): 51-61.
XU Yuhong, LONG Haitao, WANG Ting, *et al.* Effects of contact glow discharge plasma and seed treatment methodology on alfalfa seed germination[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2022, **40**(3): 51-61.
- 10 孙艳, 蒲陆梅, 龙海涛, 等. 辉光放电等离子体对苹果汁中棒曲霉素降解作用及对苹果汁品质的影响[J]. 食品工业科技, 2015, **36**(24): 104-108. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.24.013.
SUN Yan, PU Lumei, LONG Haitao, *et al.* Effect of glow discharge plasma on the degradation of patulin in apple juice and its quality[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, **36**(24): 104-108. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.24.013.
- 11 舒展, 张晓素, 陈娟, 等. 叶绿素含量测定的简化[J]. 植物生理学通讯, 2010, **46**(4): 399-402. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2010.04.001.
SHU Zhan, ZHANG Xiaosu, CHEN Juan, *et al.* The simplification of chlorophyll content measurement[J]. Plant Physiology Communications, 2010, **46**(4): 399-402. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2010.04.001.
- 12 Rüntzel C L, da Silva J R, da Silva B A, *et al.* Effect of cold plasma on black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), fungi inactivation and micro-structures stability[J]. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2019: 864. DOI: 10.9755/ejfa.2019.v31.i11.2029.
- 13 Mitra A, Li Y F, Klämpfl T G, *et al.* Inactivation of surface-borne microorganisms and increased germination of seed specimen by cold atmospheric plasma[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, **7**(3): 645-653. DOI: 10.1007/s11947-013-1126-4.
- 14 Liu Y G, Ye N H, Liu R, *et al.* H₂O₂ mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in Arabidopsis seed dormancy and germination[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, **61**(11): 2979-2990. DOI:

- 10.1093/jxb/erq125.
- 15 Rajjou L, Gallardo K, Debeaujon I, *et al.* The effect of α -amanitin on the Arabidopsis seed proteome highlights the distinct roles of stored and neosynthesized mRNAs during germination[J]. *Plant Physiology*, 2004, **134**(4): 1598-1613. DOI: 10.1104/pp.103.036293.
- 16 王敏, 陈青云, 陈光良, 等. 大气压等离子体处理对生菜种子萌发和生长发育的影响[J]. *华北农学报*, 2007, **22**(6): 108-113. DOI: 10.7668/hbxb.2007.06.022.
WANG Min, CHEN Qingyun, CHEN Guangliang, *et al.* Effect of atmospheric pressure plasma on growth and development of lettuce[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2007, **22**(6): 108-113. DOI: 10.7668/hbxb.2007.06.022.
- 17 Zhou R W, Li J W, Zhou R S, *et al.* Atmospheric-pressure plasma treated water for seed germination and seedling growth of mung bean and its sterilization effect on mung bean sprouts[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, **53**: 36-44. DOI: 10.1016/j.ifset.2018.08.006.
- 18 晨阳, 何宝胜, 薛康. 静电生物学效应及作用机理初探[J]. *中国医学物理学杂志*, 2005, **22**(3): 531-533, 524. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2005.03.011.
CHEN Yang, HE Baosheng, XUE Kang. Study on the mechanism of biological effect of electrostatic[J]. *Chinese Journal of Medical Physics*, 2005, **22**(3): 531-533, 524. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2005.03.011.
- 19 郭云涛, 张东荷雨, 张丽阳, 等. 新型冠状病毒等病原体空气消毒技术综述[J]. *清华大学学报(自然科学版)*, 2021, **61**(12): 1438-1451. DOI: 10.16511/j.cnki.qhdxxb.2021.25.004.
GUO Yuntao, ZHANG Dongheyu, ZHANG Liyang, *et al.* Air disinfection for SARS-CoV-2 and other pathogens: a review[J]. *Journal of Tsinghua University (Science and Technology)*, 2021, **61**(12): 1438-1451. DOI: 10.16511/j.cnki.qhdxxb.2021.25.004.
- 20 Lukes P, Appleton A T, Locke B R. Hydrogen peroxide and ozone formation in hybrid gas-liquid electrical discharge Reactors[J]. *IEEE Transactions on Industry Applications*, 2004, **40**(1): 60-67. DOI: 10.1109/TIA.2003.821799.
- 21 Bormashenko E, Pogreb R, Whyman G, *et al.* The reversible giant change in the contact angle on the polysulfone and polyethersulfone films exposed to UV irradiation[J]. *Langmuir*, 2008, **24**(12): 5977-5980. DOI: 10.1021/la800527q.
- 22 Bormashenko E, Grynyov R, Bormashenko Y, *et al.* Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds[J]. *Scientific Reports*, 2012, **2**: 741. DOI: 10.1038/srep00741.
- 23 Zhang W J, Björn L O. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants [J]. *Fitoterapia*, 2009, **80**(4): 207-218. DOI: 10.1016/j.fitote.2009.02.006.
- 24 Grzegorzewski F, Rohn S, Kroh L W, *et al.* Surface morphology and chemical composition of lamb's lettuce (*Valerianella locusta*) after exposure to a low-pressure oxygen plasma[J]. *Food Chemistry*, 2010, **122**(4): 1145-1152. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.03.104.
- 25 Meng Y R, Qu G Z, Wang T C, *et al.* Enhancement of germination and seedling growth of wheat seed using dielectric barrier discharge plasma with various gas sources[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2017, **37**(4): 1105-1119. DOI: 10.1007/s11090-017-9799-5.
- 26 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. DOI: 10.1007/s11090-015-9627-8.
- 27 Filatova I, Azharonok V, Kadyrov M, *et al.* The effect of plasma treatment of seeds of some grain and legumes on their sowing quality and productivity[J]. *Romanian Reports of Physics*, 2011, **56**(Suppl): 139-143.
- 28 Paatre Shashikanthalu S, Ramireddy L, Radhakrishnan M. Stimulation of the germination and seedling growth of *Cuminum cyminum* L. seeds by cold plasma[J]. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2020, **18**: 100259. DOI: 10.1016/j.jarmap.2020.100259.
- 29 Liu D, Wu L T, Naeem M S, *et al.* 5-Aminolevulinic acid enhances photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant system in oilseed rape under drought stress[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, **35**(9): 2747-2759. DOI: 10.1007/s11738-013-1307-9.
- 30 Li L, Li J G, Shen M C, *et al.* Improving seed germination and peanut yields by cold plasma treatment [J]. *Plasma Science and Technology*, 2016, **18**(10): 1027-1033.
- 31 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. DOI: 10.1007/s11090-017-9855-1.