此版本的版式与最终发表的文章不同；但科学内容完全相同。

标题	**通过低温增强苜蓿芽的营养价值与生长等离子体和紫外线种子处理**
作者	M. A. Benabderrahim、H. Hannachi、W.Elfalleh、T. Dufour
所属机构	[1]干旱与绿洲作物实验室 *LR16IRA02*，干旱地区研究所，*4119*，梅德宁，突尼斯； [2]植物生产力与环境胁迫实验室 *LR18ES04*，生物学系，理学院， 突尼斯埃尔马纳尔大学，突尼斯市 *2092*，突尼斯； [3]生物学系，理学院，伊玛目穆罕默德·本·沙特伊斯兰大学（*IMSIU*），利雅得，*11623*，沙特阿拉伯； [4]*LPP*，索邦大学，法国国家科学研究中心，巴黎综合理工学院，居里夫人广场*4*号，*75252* 巴黎，法国
通信	thierry.dufour@sorbonne-universite.fr
Ref.	《意大利食品科学杂志》，第37卷，第3期，第160-173页（2025年）。
DOI	https://doi.org/10.15586/ijfs.v37i3.2982
摘要	采用冷等离子体（CP）和紫外线辐射（UV）等环保技术，为提升苜蓿芽的芽苗品质和生产力提供了创新方法。本研究探讨了冷等离子体和紫外线辐射对苜蓿芽萌发、生长和植物化学成分谱的影响。冷等离子体显著缩短了萌发时间，与对照组相比，中位萌发时间缩短了8小时，并增强了光合色素的含量，从而提高了生物量（鲜重为25.87 mg/芽苗，干重为1.45 mg/芽苗）。紫外线处理，尤其是UV-C可提高叶绿素和总黄酮类化合物含量。总体而言，冷等离子体可有效促进苜蓿萌发和生长，而紫外线处理则能提升特定植物化学物质的含量。
关键词	冷等离子体、紫外线辐射、种子处理、苜蓿芽、萌发、生长、植物化学物质

ls

一、引言

苜蓿（紫花苜蓿 L.）是一种属于豆科的多年生植物。苜蓿以蛋白质含量高而闻名，因此是植物性饮食中极具价值的来源（Hadidi 等，2023年）。研究表明，苜蓿在食品应用和人类营养方面具有潜力，因为其叶片富含维生素和矿物质（Almuhayawi 等，2021年；Tucak 等，2021年）。尤其是通常称为芽苗的幼苗，在种子萌发过程中形成了出色的营养成分构成，因此备受青睐。苜蓿芽广受食用，既可生吃（如加入沙拉），也可稍加烹煮（Rajkowski 等，2001年）。然而，种皮不透水、休眠、微生物污染和环境差异等多种因素都可能抑制苜蓿种子的萌发（Kameswara 等，2017年）。这些挑战不仅会延缓芽苗发育，还会增加生产成本。因此，提高种子萌发率是改善苜蓿芽苗建植和生长最有效的策略之一。

种子引发是商业农业中常用的一种技术，可提高种子活力、萌发潜力和胁迫耐受性（Paparella 等，2015年）。尽管目前已有多种物理、化学和生物处理方法，但基于化学物质的引发方法因可能对种子储藏产生不利影响，并带来相关的环境污染风险，正日益受到限制（Bera 等，2022年）。对此，物理引发技术

作为提升种子萌发和幼苗生长的环保且经济高效的替代方法，这些技术已受到广泛关注。冷等离子体（冷等离子体）处理和紫外线（紫外线）辐射等技术不仅能改善种子表现，还有助于推动农业可持续发展，因而具有显著优势。与传统化学处理相比，这些方法代表了绿色技术的新前沿，提供了更安全、更高效的解决方案。

冷等离子体（CP）又称非热等离子体，是一种部分电离的气体，其中含有电子、离子、原子以及寿命较短（即低于 1 毫秒，例如 OH 和一氧化氮自由基）和较长（即臭氧和二氧化氮）的活性物种（Bourke 等，2018年）。与所有粒子均处于热平衡且温度极高的热等离子体（例如太阳、闪电）不同，冷等离子体中的电子具有很高的能量，而较重的离子和中性粒子则保持在室温或接近室温。因此，冷等离子体可以在相对低温下生成和使用，适用于医学、食品去污和农业等各种应用，且不会对周围材料或组织造成热损伤。在农业应用中，冷等离子体被视为一种经济、快速且环保的方法，可促进种子萌发和幼苗生长。它已成功用于改善与种子萌发相关的种子特性，例如润湿性、渗透性和吸水性（Benabderrahim 等，2024年；Li 等，2017年）。

紫外线照射又称光刺激，是一种可激活种子生物学参数的绿色技术（Kondrateva 等，2019年）。除光合有效辐射（400–700 nm）外，植物还会受到三种紫外线辐射：UV-A（320–390 nm）、UV-B（280–320 nm）和UV-C（低于280 nm）（Foroughbakhch 等，2019年）。研究人员已广泛开展研究，以探讨紫外线辐射的生物学影响及其机制（Semenov 等，2020年）。尽管平流层中的臭氧层会过滤掉大部分UV-C辐射，但高剂量的UVA、UV-B或UV-C可能会对植物健康产生负面影响。相反，低强度紫外线辐射，尤其是用于种子处理时，可作为一种可持续且安全的方法，提升植物生产力和胁迫耐受性（Hernandez-Aguilar 等，2021年）。

Foroughbakhch 等人（2019年）报道称，在发芽试验期间，不同物种的种子对UV-B和UV-C辐射的敏感性存在差异。在农业中，非电离UVC辐射已显示出对种子健康、萌发和幼苗活力的积极影响（Neelamegam 和 Sutha，2015年；Sukthavornthum 等人，2018年）。此外，一些研究已经

揭示，在谨慎施用的情况下，UV-B辐射能够显著影响植物发育、生物量生产和代谢（Ozel 等人，2021年）。尽管研究植物对UV-A的响应较少，但有证据表明，UV-A可能影响《植物》的生物量生产，并且不同植物器官之间表现出不同的响应（Verdaguer 等人，2017年）。总体而言，与UV-B和UV-C相比，关于UV-A对种子辐照影响的详细研究仍然有限。

在此背景下，本研究旨在探讨冷等离子体和紫外线辐照处理（UV-A、UV-B 和 UV-C）对苜蓿种子萌发的影响，重点关注发芽率、吸胀、电解质渗漏（EL）和润湿性等关键参数。此外，本研究还考察幼苗生长（上胚轴和下胚轴的发育），并评估芽苗的植物化学成分，包括叶绿素（Chl）和类胡萝卜素含量、总可溶性糖、淀粉、蛋白质、多酚和黄酮类化合物。通过探索这些环保技术，本研究旨在加深对如何提高芽苗产量的认识，并为农业产业的可持续实践作出贡献。

II. 材料与方法

II.1. 种子材料

紫花苜蓿种子（紫苜蓿）采自突尼斯梅德宁干旱地区研究所试验田中的一个地方品种，采收时间为2023年夏季。仅选取活力较强的种子。采收后，种子储存在 –4°C，直至开始进行冷等离子体和紫外线处理。

II.2. 冷等离子体（CP）和紫外线辐射种子处理

采用平板-平板构型的介质阻挡放电装置（DBD）产生环境空气冷等离子体。该系统由一层厚度为2 mm的介质阻挡层和两个电极组成：一个高压不锈钢网状电极（30 × 40 cm2）和一个由块体氧化铝制成的接地对电极。苜蓿种子置于电极间区域，该区域的间隙为1 mm。网状电极由一台高压发生器供电，该发生器由函数发生器（ELC Annecy France，GF467AF）和功率放大器（Crest Audio，5500W，CC5500）组成，施加频率为500 Hz、幅值为7 kV的正弦波电压。苜蓿种子接受该处理5分钟。

进行紫外线辐射处理时，种子接受了3UV-36灯的照射，该灯发射UV-B（310 nm）和UV-C（254 nm）辐射，强度分别为0.06 W m-2和0.03 W m-2（Díaz-Leyva 等，2017年）。UV-A（370 nm）辐射的强度为2 W m-2（Lim 等，2021年）。每次紫外线照射处理均在25°C下进行15分钟。

II.3. 种子的电解质渗漏和吸水（WU）

为评估未处理和经处理种子的膜完整性，参照Lazar 等 (2014年)所述方法测定电解质渗漏。具体而言，将三份各含0.1 g种子的样品置于10 mL去离子水中，并在25°C水浴中孵育。孵育24小时、48小时和72小时后，使用WTW Cond 730电导率仪（GeoTech，丹佛，CO，美国）定期测定溶液的电导率。结果以mS/cm.g种子表示，为三次重复测定的平均值 ± 标准误（SE）。

将 0.1 g 健康种子（初始干重，Wi）置于 10 mL 蒸馏水（pH = 7）中 24 小时，以测定吸水量；该时长对应估算的 50% 萌发所需时间。24 小时后取出种子，用滤纸吸干表面水分，并记录其鲜重（WS）。吸水量根据公式 1 计算：

$$WU = \frac{W_S - W_i}{Ws} \times 100 \quad (1)$$

II.4. 种子的润湿度（水接触角）

采用液滴形状分析评估苜蓿种子最外层的润湿性。实验使用静滴法，将单个液滴（1.5 µL，蒸馏水）小心地滴加到每粒种子的表面。随后，使用 ImageJ 程序（https://imagej.nih.gov/ij/plugins/contact-angle.html）计算水接触角（WCA）。

II.5. 萌发动力学

发芽试验在受控条件下进行，温度为 25°C，且处于黑暗环境中。每个处理组（C、CP、UV-A、UV-B 和 UV-C）各取 50 粒种子，放置于铺有一层滤纸的培养皿中（第 0 天）。整个实验期间，每隔 2 天向培养皿中加入 5 mL 蒸馏水以保持湿润。每种处理均在三次独立实验中各进行三次重复。萌发后，将芽苗置于培养室的受控环境中生长（湿度 40%、温度 25°C，光照–黑暗周期为 16–8 小时）。

每隔 7 小时统计一次每个培养皿中的发芽种子数量。当胚根长度达到或超过 2 mm 时，视为种子已萌发（Manmathan 等，2013）。萌发实验进行了三次重复（每种处理共使用 150 粒种子）。发芽率（$G_{\%}$）根据以下公式 2 计算：

$$G_{\%} = \frac{100}{N} \times \left[\frac{Number\ of\ seeds}{germinated\ in\ x\ hour}\right] \quad (2)$$

II.6. 幼苗生长和芽苗生物量

播种六天后，对随机选取的 10 粒发芽种子（每个处理组）进行拍照，并使用 ImageJ 软件测量其根长（RL）和下胚轴长度（HL）。通过两个参数评估芽苗生物量：鲜重（FW）和干重。芽苗鲜重（SFW，毫克/株）通过称量 25–30 株幼苗确定，并将总重量除以幼苗株数。为测定干重，将幼苗放入设定为 80°C 的烘箱中干燥过夜，然后称重以确定芽苗干重（SDW，毫克/株）。

II.7. 芽苗中叶绿素和类胡萝卜素的含量

色素含量以鲜样计。具体而言，将100 mg幼苗地上部分切成小圆片，浸入80%丙酮（5 mL）中。混合物在4°C下放置72小时。随后过滤提取液，并使用Beckman分光光度计在470 nm、646 nm和663 nm处测定吸光度。叶绿素和类胡萝卜素含量以mg/g鲜重表示（Ghazouani 等，2021年）。

II.8. 芽苗中的蛋白质含量

采用Bradford（1976年）法测定蛋白质含量。配制显色试剂时，将100 mg考马斯亮蓝G-250（Sigma-Aldrich公司）溶于50 mL 95%乙醇中，然后加入100 mL 85%磷酸。稀释并过滤后，所得溶液用作蛋白质测定的显色试剂。配制试剂级牛血清白蛋白（Equitech-Bio公司，美国得克萨斯州克尔维尔）的标准溶液，浓度范围为0至400 µg蛋白质。样品和标准品均用封口膜覆盖，孵育5分钟以显色。使用分光光度计（Anthelie Advanced，Microbeam公司）在595 nm处测定样品和标准品的吸光度。为测定样品的蛋白质含量，采用最小二乘回归分析，将标准蛋白质浓度与其吸光度测量值进行关联。

II.9. 芽苗中的总可溶性糖和淀粉含量

可溶性糖和淀粉含量根据蒽酮法（Staub，1963年）测定。为提取糖，将10 mg鲜芽苗与1 mL 80%乙醇混合，并在70°C水浴中孵育30分钟。冷却后，将溶液在4°C下以9000转/分钟离心15分钟。重复此过程三次，以确保充分提取。收集上清液和沉淀，分别用于测定糖和淀粉含量。

为测定糖含量，将 2 g 蒽酮溶解于 100 mL 浓硫酸（36 N）中，配制蒽酮试剂。随后，将 2 mL 该蒽酮试剂加入 1 mL 上清液中。将混合物搅拌并孵育于 100°C 水浴中 10 分钟。孵育结束后立即将溶液置于冰上冷却，以终止反应。在 640 nm 处测定混合物的吸光度。

测定淀粉含量时，将保留沉淀与1 mL 80%乙醇混合，并在4°C下以9,000 rpm离心两次，每次10分钟。淀粉提取（1 mL上清液）使用高氯酸（30 µL）进行。将混合物置于冰中30分钟。随后，将2.5 mL蒽酮加入1.2 mL 80%乙醇和0.1 mL提取液中。振荡后，将溶液在100°C下孵育10分钟。冷却后，在640 nm处记录吸光度。以葡萄糖溶液为标准配制校准曲线，并在相同实验条件下使用80%乙醇配制对照组。糖和淀粉含量以每克鲜样中的毫克数表示（mg/g FM）。

II.10. 芽苗中的总酚和总黄酮含量

使用 1 g 干物质和 10 mL 60% 乙醇，在 25°C 下浸渍 24 小时，以提取酚类物质和黄酮类化合物。随后过滤混合物，将所得提取物置于 4°C 保存，直至分析。

采用 Folin–Ciocalteu试剂法测定芽苗乙醇提取物的总酚含量（TPC）。校准标准采用浓度范围为 0 至 600 µg/ mL 的没食子酸。结果以每 100 g 芽苗干重中的没食子酸当量毫克数表示（mg GAE/100 g 干重）。

采用比色法测定总黄酮含量（TFC），该方法基于黄酮类化合物–铝络合物的形成，其最大吸光度为 430 nm。将每份样品提取液（1 mL）与 1 mL 亚硝酸钠（$NaNO_2$）0.5 M 和 150 µL $AlCl_3$ 0.3 M 混合。随后，在室温下孵育 15 分钟后，于 430 nm 测量吸光度。使用芦丁作为标准品绘制校准曲线，总黄酮含量以每 100 g 干重中的芦丁当量毫克数表示（mg RE/100 g 干重）（Djeridane 等，2006）。

II.11. 统计分析

使用 XLSTAT 2019年软件（https://www.xlstat.com）进行单因素方差分析统计分析。结果以均值 ± 标准差（± SD）表示。为估算处理间的显著差异，进行了 Duncan 多重极差检验（$p < 0.05$）。所有测量至少重复三次。

III. 结果与讨论

III.1. 苜蓿种子萌发动力学

图1A比较了冷等离子体和紫外线辐照处理对苜蓿种子萌发动力学的影响。对照组种子的中位萌发时间为26小时，并在60小时的观察期内达到100%的发芽率，表明其处于非休眠状态且具有强健的生理活力。紫外线处理（UV-A和UV-B）相关曲线与对照组相比没有显著差异，而经UV-C处理的种子中位萌发时间为24小时，提前了2小时，改善幅度较小。有趣的是，冷等离子体处理的种子中位萌发时间短至18小时，也就是说，其萌发比对照组提前了8小时。36小时后，几乎所有处理组的种子均已全部萌发，表明冷等离子体对萌发动力学具有积极影响。此外，所有处理组均观察到健康且均一的表型（图1B），说明冷等离子体和紫外线处理均未对胚胎活力造成不利影响。

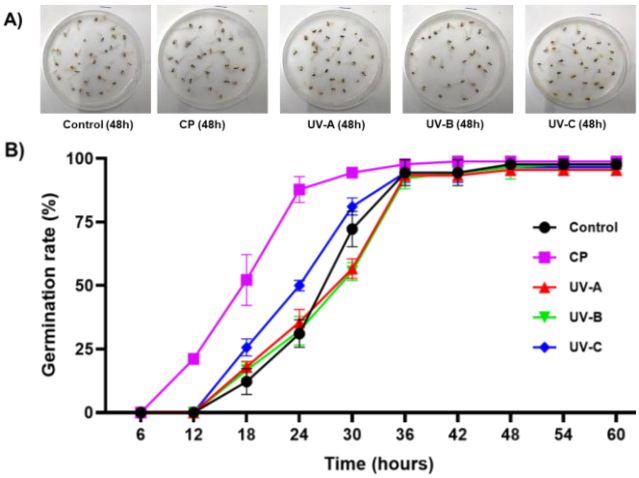

图1. 不同处理条件下苜蓿种子的萌发动力学及表型比较。(A) 60小时内苜蓿种子的萌发动力学，对比冷等离子体（CP）和紫外线辐射（UV-A、UV-B 和 UV-C）处理与对照组的效果。(B) 播种48小时后，对照组、经 CP、UV-A、UV-B 和 UV-C 处理的种子的萌发表型。每条水平线表示1 cm的比例尺。

这些通过环境空气冷等离子体处理获得的后续结果，与低压等离子体处理苜蓿种子所得结果一致，无论是Jinkui 等人(2018年)使用空气-氦气混合气体射频放电、以数十瓦功率处理15秒的研究，还是Tang 等人(2016年)使用氖气放电、以20 W功率处理20秒的研究。

植物对紫外线辐射的响应取决于物种、暴露时长和具体的紫外波段。例如，Peykarestan和Seify（2012年）表明，红豆的种子萌发率与照射波长呈负相关。同样，研究还发现随着UV-B暴露时间从5分钟延长至60分钟，发芽率和发芽速度均有所下降（Ozel等，2021年）。然而，Mariz-Ponte等（2018年）报告称，适度的紫外线A波段补充照射对番茄种子有益，能够加快萌发并使萌发更加同步。总之，低强度、短时（15分钟）的UV-C照射可以加快萌发，但与冷等离子体处理所产生的刺激效果相比，其作用不太显著。

III.2. 电解质渗漏、种子吸胀和表面亲水性的变化

对种子组织中EL的评估通常用作膜完整性的指标。如**图2A**所示，无论是未经处理的种子还是经过处理的种子，该参数在72小时内均有所升高。在各种处理方式中，CP在所有时间点（24小时、48小时和72小时）均诱导了最高的EL，其次是UV-A处理。相比之下，经UV-B和UV-C处理的种子表现出最低的EL，表明其膜稳定性更好。有趣的是，WU呈现出相反的趋势：经CP处理的种子表现出最低的WU（**图2B**），而其表面涂层的WCA值较低（**图2C**）。相应地，UV-B和UV-C处理导致最高的WU和最低的EL（**图2A**和**2B**），从而表明这些处理具有更好的水合能力和膜稳定性。

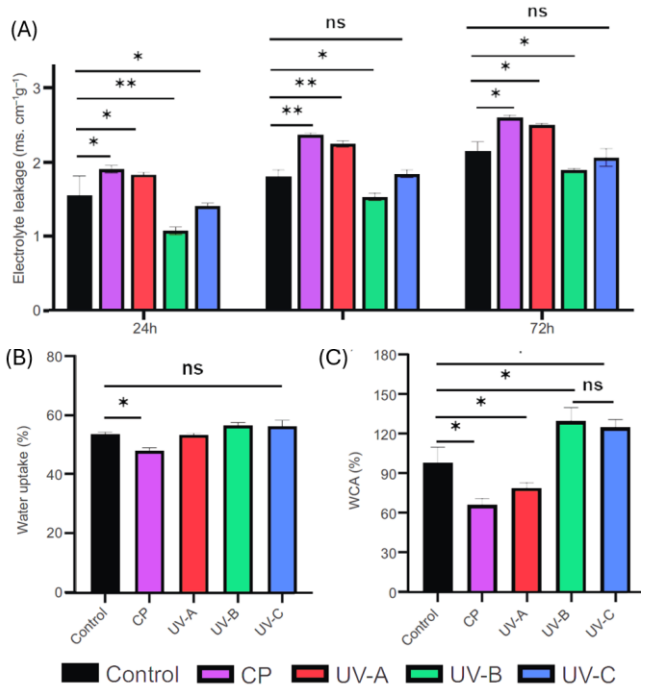

图 ***2.*** 不同处理对苜蓿种子的电解质渗漏、吸水和水接触角（***WCA***）的影响。***(A)*** 处理后 ***24***、***48*** 和 ***72*** 小时种子和幼苗的电解质渗漏（***B***）；处理后 ***24*** 小时种子的吸水情况；以及 ***(C)*** 种子的 ***WCA***。***CP***：冷等离子体；***UV***：紫外线辐射 ***A***、***B*** 和 ***C***。星号表示处理间存在统计学显著差异（*：$P \le 0.05$；**：$P \le 0.01$；****：$P \le 0.001$），差异根据邓肯检验确定。

III.3. 芽苗生长与生物量生产

观察到的电解质渗漏（EL）、吸水（WU）和水接触角（WCA）之间的相互作用，凸显了膜完整性和水合在种子表现中的关键作用。由于这些因素直接影响早期幼苗发育所必需的水分和营养物质的可利用性，因此有必要考察它们如何影响后续的生物量积累和芽苗生长。如**图3A**和**3B**所示，与对照组、UV-B处理和UV-C处理相比，经过冷等离子体（CP）和UV-A处理的种子，其芽苗鲜重（SFW）和干重（SDW）均显著更高。具体而言，6天后，冷等离子体处理种子产生的鲜重为25.87 mg/芽苗，干重为1.45 mg/幼苗；UV-A处理种子产生的鲜重为23.77 mg/芽苗，干重为1.28 mg/芽苗。

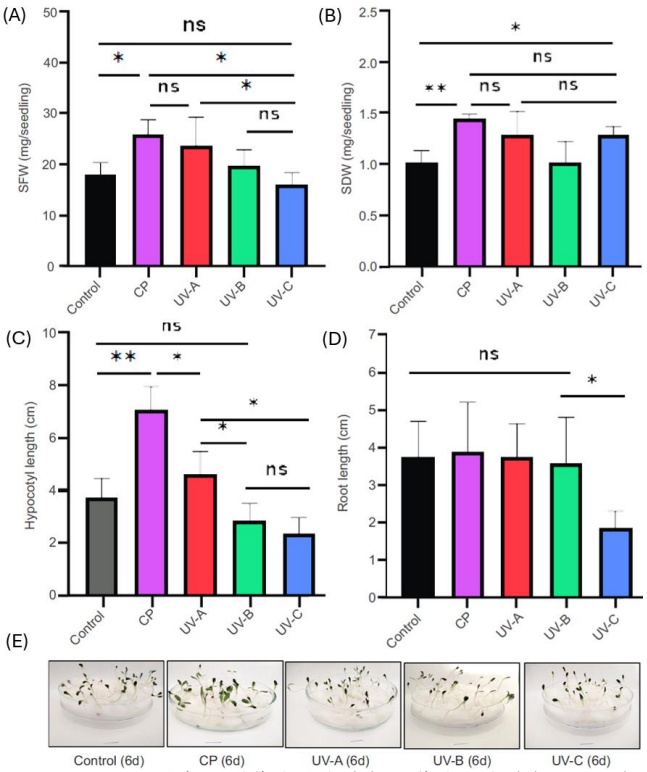

图***3.*** 不同处理下播种***6***天后芽苗鲜重（***A***）、芽苗干重（***B***）、下胚轴长度（***C***）和根长（***D***）的变化。各处理下播种***6***天后的芽苗表型（***E***）。***C***：对照组；***CP***：冷等离子体；***UV***：紫外线辐射***A***、***B***和***C***。横线表示***1 cm***的比例尺。星号表示种子处理组之间存在显著差异（*：***P ≤ 0.05***；**：***P ≤ 0.01***；****：***P ≤ 0.001***），依据邓肯检验。

就芽苗生长而言，冷等离子体处理也显著促进了下胚轴伸长（**图3C**），表明其发育得到增强。相比之下，UV-C处理显著降低了下胚轴长度和根长（**图3D**），这可能是由于UV-C的高能量和短波长对DNA和蛋白质造成了损伤，正如 Beck 等人（2017年）所报道。其他处理之间的根长没有显著差异。此外，还观察到鲜重（**图3A**）与下胚轴长度之间存在直接相关性（**图3C**），这两个参数在不同处理间呈现完全相同的变化趋势。

鉴于观察到芽苗鲜重和干重产量有所提高，冷等离子体技术似乎是一种提高苜蓿芽产量的有效方法。这些促进作用与其在其他植物物种中观察到的效果相似，包括大豆（Ling等，2014年）、大麦（Benabderrahim 等，2024年）以及小麦和燕麦（Sera 等，2010年）。冷等离子体对幼苗生长的整体促进作用可能与光合作用等生理过程的变化有关；本文通过测定不同类别芽苗的叶绿素含量，进一步探讨这一问题。

III.4. 光合色素变化

在高等植物中，叶绿素a和叶绿素b是光捕获天线系统中含量最丰富的色素（Tang 等，2023年）。它们在吸收光并将其传递至光合反应中心的过程中发挥着核心作用。这些色素对于优化光合效率至关重要。 **表1**总结了不同处理下苜蓿芽中叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素的含量，而**图4A**展示了类胡萝卜素含量的变化。不同处理类别下的色素积累量存在显著差异。冷等离子体处理种子所萌发的芽苗中，光合色素浓度最高，总叶绿素达到16.18 mg/g鲜重，类胡萝卜素达到5.09 mg/g鲜重，明显高于对照组和紫外线处理组。相比之下，对照种子萌发的芽苗中总叶绿素仅为3.42 mg/g鲜重，类胡萝卜素为2.01 mg/g鲜重。在紫外线处理中，UV-C使总叶绿素适度增加（5.82 mg/g鲜重），而UV-A和UV-B处理导致色素积累量较低。UV-A和UV-B处理种子的数值最低，总叶绿素分别为2.01 mg/g鲜重和2.37 mg/g鲜重。

表***1.*** 不同种子处理（冷等离子体和紫外线辐射）获得的苜蓿芽光合色素含量（***mg/g*** 鲜重）。

	叶绿素a	叶绿素b	总叶绿素
对照组	1.84±0.02c	1.58±0.11b	3.42±0.08c
CP	10.91±0.13a	5.26±0.04a	16.18±0.09a
UV-A	1.71±0.19c	0.28±0.01c	2.01±0.11d
UV-B	2.07±0.31c	0.29±0.02c	2.37±0.46d
UV-C	4.26±0.44b	1.56±0.42b	5.82±0.86b

Tang 等 (2023年)报告称，影响净光合速率的关键因素是叶绿素含量（尤其是叶绿素 b 含量）和气孔导度，这解释了为何提高光合效率对于增加作物产量至关重要（Ort 等，2015年）。既往研究一致表明，由冷等离子体处理种子培育出的幼苗，其光合色素积累有所增加。例如，Motrescu 等 (2024年)发现，冷等离子体处理可提高苜蓿芽的叶绿素含量，但处理时长延长后，这种效果会减弱。同样，Fiutak 等 (2024年)发现，在芽苗培育过程中施加脉冲光胁迫可进一步促进光合色素的积累，并

促进蛋白质积累。本研究采用的暴露时长似乎最适合刺激色素生成，从而促进生物量积累。

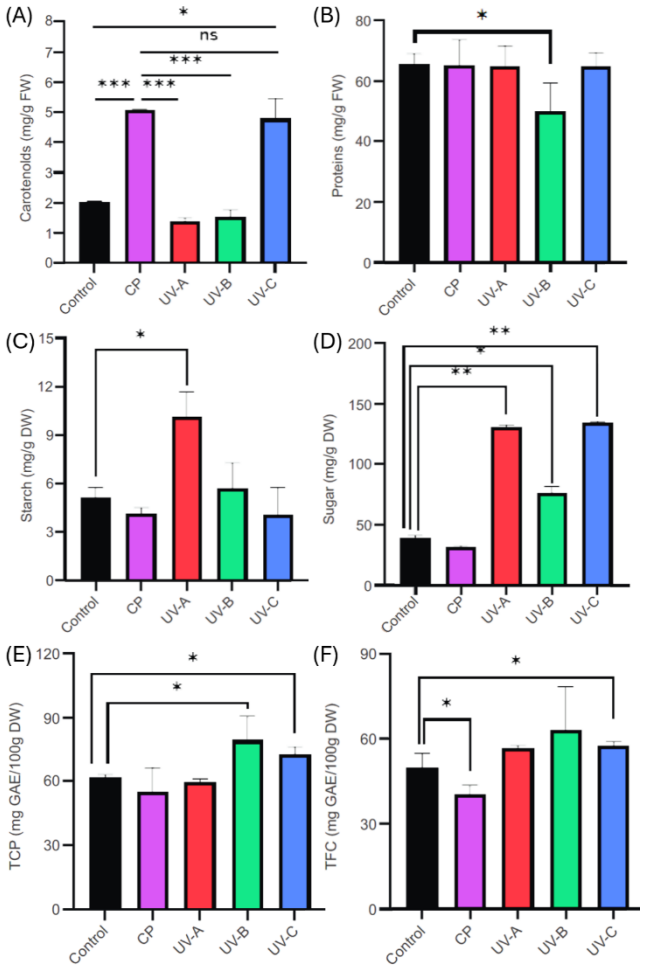

图*4.* 不同处理对苜蓿芽中类胡萝卜素（***A***）、蛋白质（***B***）、总多酚（***C***）、总黄酮含量（***D***）、淀粉含量（***E***）和糖含量（***F***）的影响。***C***：对照组；***CP***：冷等离子体；***UV***：紫外线辐射***A***、***B***和***C***。星号表示根据邓肯检验，种子处理之间存在显著差异（*：$P \le 0.05$；**：$P \le 0.01$；****：$P \le 0.001$）。

冷等离子体诱导的叶绿素含量增加，可能有助于改善光合性能，进而提高生物量生产（Mildaziene 等，2022年）。与对照组相比，UV-C处理虽然效果不及冷等离子体，但也提高了总叶绿素含量，这与幼苗生物量的小幅提升相吻合。这些结果表明，冷等离子体通过增强光合作用提高芽苗生物量，而光合作用是决定植物生产力的首要因素。

III.5. 种子处理对芽苗蛋白质和碳水化合物组成的影响

不同处理间苜蓿芽的蛋白质含量没有显著差异（**图4B**），但UV-B处理除外，其导致蛋白质含量略微降低（50 mg/100g 干重），相比对照组（65.55 mg/100g 干重）。先前研究已证实，UV-B辐射穿透植物细胞的能力有限，主要影响植物细胞的表面或近表面区域（Liu 等，2013）。这种蛋白质含量的轻微降低可能是由苜蓿UV-B种子处理产生的活性氧和氮物种引起的。在某些情况下，DNA和蛋白质等细胞内成分可能受到空气环境中产生的活性氧和活性氮的损伤（Niedźwiedź，等，2022年）。相比之下，Foroughbakhch 等 （2019年）报道，UV-C辐射可能导致蛋白质合成减少及其结构发生改变。尽管关于UV-B对植物蛋白质含量影响的研究较少，但**图4B**中观察到的降低可能源于多种因素，例如：（i）抑制胁迫相关蛋白质；（ii）酶活性降低；以及（iii）蛋白质表达改变。

为进一步研究冷等离子体和紫外线处理是否会影响芽苗的碳水化合物组成，我们测定了不同幼苗中的淀粉含量和可溶性糖（蔗糖和 β-葡聚糖）。所得结果见**图4C**和**4D**。除UV-A处理外，各处理组与对照组之间的淀粉含量均无显著差异。同样，冬小麦经过UV-B处理后，总淀粉含量也未发生变化（Yao 等，2014年）。未经处理的种子长出的芽苗中，淀粉含量为5.12 mg/g干重。然而，经UV-A处理的种子长出的苜蓿芽淀粉含量更高（9.23 mg/g干重）。

就可溶性糖含量（**图4D**）而言，比较所有处理后发现，UV-A和UV-C处理诱导的糖含量最高，平均值分别为130.87和134.59 mg/g DW。其次是UV-B处理，为76.72 mg/g DW；冷等离子体处理下芽苗的可溶性糖浓度最低（32.02 mg/g DW）。番茄中也观察到类似结果，1小时的UV-A处理使糖含量升高（Mariz-Ponte 等，2021年）。经紫外线辐射处理的种子培育出的苜蓿芽糖含量意外升高，可通过若干与生理和生化过程相关的假设来解释：（i）植物作为胁迫响应的一部分积累糖和其他渗透调节物质；（ii）上调碳水化合物代谢相关基因的表达；（iii）紫外线辐射诱导淀粉分解。

先前研究也报告称，黑暗处理会促进苜蓿芽可溶性糖含量增加（Sun 等，2024年），进一步支持了这一假设：紫外线照射等胁迫相关响应可能会增强芽苗中的糖积累。

III.6. 不同处理对总酚含量和总黄酮含量的影响

多酚类化合物是一类独特的天然分子，富含多个酚类官能团。**图 4E**和 4F 分别展示了不同处理下 TPC 和 TFC 的变化。与对照组相比，冷等离子体处理种子所长出的芽苗中 TPC 未受影响，而经 UV-B 和 UV-C 处理的芽苗中 TPC 显著增加。TFC 呈现出相似趋势，UV-处理中观察到较高的黄酮类化合物含量。

处理后的芽苗。这些结果与以下研究一致：Kotilainen 等人(2008年)报告称，灰桤木（灰桤木）和白桦（绒毛桦）叶片暴露于太阳紫外线辐射后，黄酮组成会发生改变。这表明，包括UV-A、UV-B和UV-C在内的紫外线辐射，会刺激苜蓿芽中多酚的生成，作为抵御紫外线诱导的氧化胁迫的一种防御机制。因此，经过紫外线照射处理后，幼苗的多酚含量可能更高。此外，正如 Yan（2020年）在豆科植物中观察到的那样，总黄酮含量的变化可能归因于紫外线辐射对参与黄酮生物合成的基因的差异性调控。因此，紫外线照射导致多酚增加，可能会影响苜蓿芽的营养和药用特性。较高的多酚含量可能增强幼苗的抗氧化活性，但也可能影响其生长发育。在本研究中，5分钟的紫外线处理似乎有利于多酚积累（**图4E**和**3F**）。然而，这种提升也伴随着代价，表现为生长抑制（**图3C**和**3D**）。这些结果凸显了提高植物化学成分含量与维持生长之间需要取得平衡，并强调应制定适当的紫外线处理方案，以最大限度地发挥益处，同时尽量减少不利影响。

III.7. 冷等离子体与紫外线辐射促进苜蓿芽生长的比较分析

为评估冷等离子体和紫外线处理的影响，并揭示其促进种子萌发和芽苗生长的潜在机制，我们在**图5**中总结了这些处理对苜蓿芽的生理和生化影响。

冷等离子体处理对苜蓿芽的生理和生化特性均表现出显著的积极影响。经冷等离子体处理的种子，其光合色素水平显著提高，其中总叶绿素含量（16.18 mg/g FW）和类胡萝卜素含量（5.09 mg/g FW）均为所有处理组中最高（**表1**，**图4A**）。这些结果表明，冷等离子体诱导产生的活性氧和氮物种（RONS）会激活参与叶绿素和类胡萝卜素生物合成的代谢途径。冷等离子体引发的氧化胁迫可能会刺激这些生物合成途径，提高光捕获效率和光合作用水平，从而促进生物量大量积累（**图3A**和**3B**）。此外，冷等离子体处理显著降低了水接触角，表明种子表面亲水性有所改善，且吸水潜力增强；但吸水性反而降低，这可能是因为角质层改变限制了水分吸收。此外，可溶性糖含量降低（32.02 mg/g DW，**图4D**），表明冷等离子体处理诱导了代谢优先级的转变，糖可能被转而用于能量需求型生长过程，而非储存。尽管发生了这些代谢变化，蛋白质水平仍与对照组相当，凸显了冷等离子体处理能够促进生长而不损害初级代谢功能。

UV-A处理使苜蓿芽产生了中等程度但明显的代谢响应。淀粉含量（9.23 mg/g DW）和可溶性糖含量（130.87 mg/g DW）均显著增加（**图4C**和**4D**），表明碳水化合物代谢增强。这种积累可能反映了植株对UV-A诱导的轻度氧化胁迫所产生的适应性响应，促使其储存能量并生成渗透调节物质以缓解胁迫。UV-A处理还通过降低水接触角改善了表面润湿性，可能有助于营养吸收和幼苗发育。然而，与冷等离子体处理不同，UV-A对光合色素的影响很小，总叶绿素含量（2.01 mg/g FW）显著低于对照组（**表1**）。这表明UV-A主要影响碳水化合物代谢途径，而非光合作用效率。幼苗生物量（**图3A**和**3B**）及下胚轴伸长（**图3C**）的适度提升与这些代谢变化相符，凸显了UV-A在平衡生长与胁迫缓解方面的作用。

UV-B处理的影响更为复杂，会诱导中等程度的胁迫响应。尽管总叶绿素含量（2.37 mg/g FW）仍然较低，UV-B显著提高了可溶性糖含量（76.72 mg/g DW，**图4D**），反映出植物转向采用渗透保护机制。这些糖可能发挥双重作用，既是能量来源，也是渗透调节物质，从而增强胁迫耐受性。此外，UV-B处理促进了黄酮类化合物合成（**图4E**和**4F**），通过清除活性氧（ROS）和吸收有害的紫外线波长，有助于实现光保护。蛋白质含量略有下降（**图4B**），可能是蛋白质受到氧化损伤或胁迫导致蛋白质合成受抑所致。尽管出现了这些生化适应，经过UV-B处理的芽苗生物量积累仍只有有限改善（**图3A**和**3B**），这表明胁迫响应的代谢成本可能超过其带来的生长益处。

在紫外线处理中，UV-C处理引发的氧化胁迫最为严重，表现为可溶性糖大量积累（134.59 mg/g DW，**图4D**）。糖含量较高表明植株产生了强烈的胁迫响应，旨在通过稳定细胞结构和维持渗透平衡来减轻氧化损伤。此外，经UV-C处理的芽苗总叶绿素含量（5.82 mg/g FW）和类胡萝卜素含量（4.83 mg/g FW）适度增加（**表1**、**图4A**），从而增强了光保护作用和活性氧清除能力。然而，UV-C显著抑制了幼苗生长，表现为鲜重和干重降低（**图3A**和**3B**），下胚轴长度和根长缩短（**图3C**和**3D**）。这种生长抑制可能是由于UV-C的高能辐射造成广泛的DNA损伤，并影响细胞分裂和伸长。值得注意的是，尽管生长受到限制，蛋白质含量仍未受影响（**图4B**），这表明UV-C诱导的胁迫不会损害蛋白质生物合成，而是使代谢优先级转向防御而非生长。

本预印本文件可按需使用，但其版式与最终发表的文章有所不同。

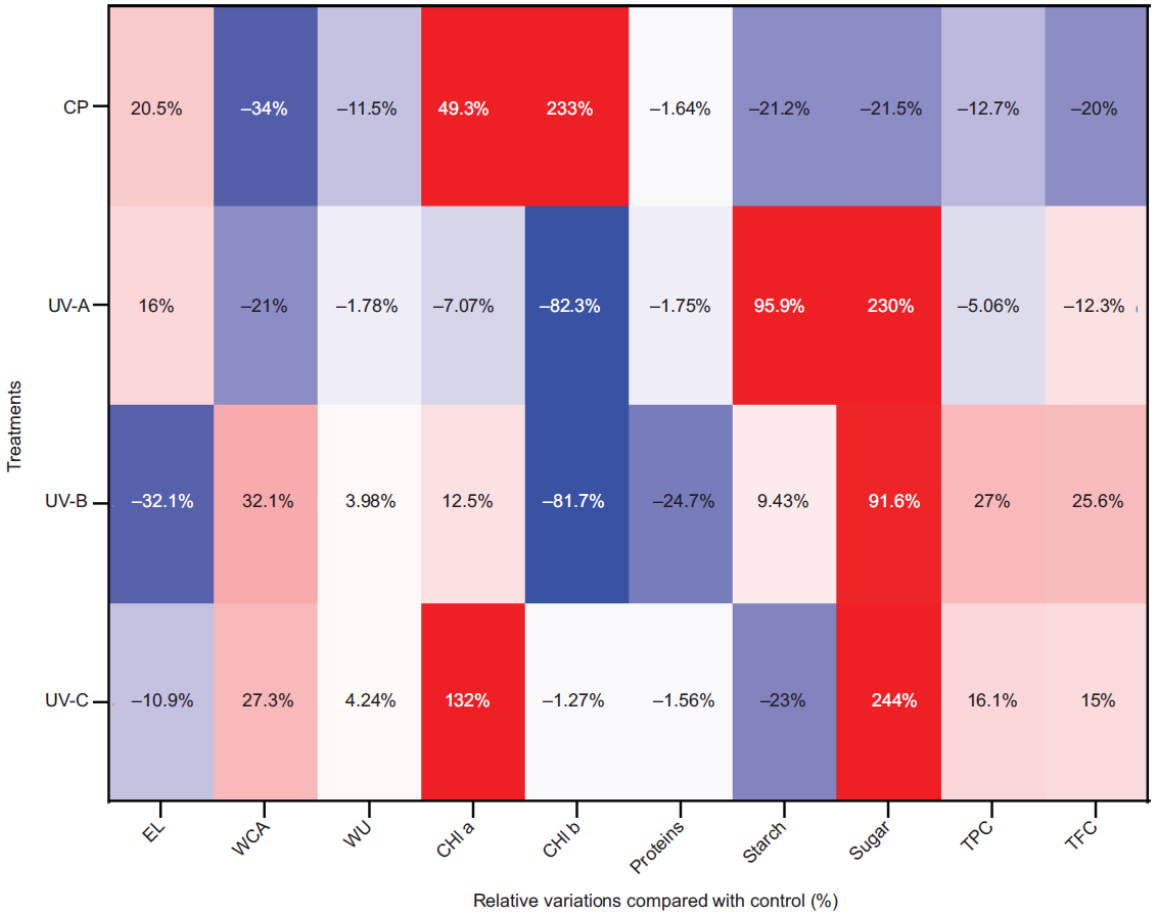

图***5.*** 热图汇总了冷等离子体和紫外线辐射处理的苜蓿芽相较于对照组在生理和生化性状方面的相对变化。

IV. 结论

本研究证实，冷等离子体暴露和紫外线辐射可作为物理技术，用于改善苜蓿种子萌发、幼苗生长和植物化学成分。冷等离子体处理显著改善了萌发动力学，使萌发更快、更整齐；与未经处理和经紫外线处理的种子相比，种子分别提前8小时和6小时萌发。冷等离子体处理还促进了更好的幼苗生长，使鲜重和干生物量达到最高，并显著提高叶绿素和类胡萝卜素含量，表明其能够提升光合效率。这些结果表明，冷等离子体是一种有望提高苜蓿芽产量的方法。另一方面，紫外线辐射，尤其是UV-C，有望增加特定植物化学成分，例如具有抗氧化特性的酚类物质和黄酮类化合物。尽管紫外线处理在促进整体生长方面效果较差，但通过提高可溶性糖、酚类物质和黄酮类化合物含量，改善了苜蓿芽的营养成分构成；其中，UV-A和UV-C处理的糖积累量最高。这凸显了紫外线辐射提升作物营养和药用价值的潜力。本研究为后续研究开辟了多个方向。优化冷等离子体和紫外线处理的处理参数可能进一步提升研究效性处理方法的组合可能会产生协同效应，从而优化生长和植物化学成分含量。将这些技术推广到其他作物，并评估其对作物品质和种子贮藏潜力的长期影响，可为了解其更广泛的适用性提供有价值的见解。最后，田间试验和经济分析对于确定这些技术在农业实践中大规模实施的可行性至关重要。

V. 数据可用性

数据可根据请求提供。

VI. 作者贡献

MAB 负责撰写初稿、开展实验、进行正式分析和调查研究。HH 负责植物化学分析、撰写、修订和统计分析。WE 参与撰写、编辑和验证。TD 负责等离子体处理、撰写、编辑和验证。

VII. 利益冲突

作者确认不存在任何利益冲突，并声明未获得可能对研究结果产生偏倚的重大财政支持。

VIII. 资助

本研究获得伊玛目穆罕默德·本·沙特伊斯兰大学（IMSIU）科学研究院的支持和资助（资助编号 IMSIU-DDRSP2502）。

IX. 参考文献

Almuhayawi M.S., Hassan A.H., Al Jaouni S.K., Alkhalifah D.H.M., Hozzein W.N., Selim S., AbdElgawad H., Khamis, G. 2021年。升高的CO_2对三种苜蓿芽（紫花苜蓿）的营养价值和促健康潜力的影响。《食品化学》340：128147。https://doi.org/10.1016/j. foodchem.2020.128147

Beck S.E., Ryu H., Boczek L.A., Cashdollar J.L., Jeanis K.M., Rosenblum J.S., Lawal O.R., Linden K.G. 2017年。评估 UV-C LED消毒性能并研究潜在的双波长协同作用。《水研究》109：207–216。https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.024

Benabderrahim M.A.、Bettaieb I.、Hannachi H.、Rejili M.、Dufour T. 2024年。冷等离子体处理促进大麦萌发和幼苗活力：对可溶性糖、淀粉和蛋白质修饰的深入认识。《谷物科学杂志》116：103852。https://doi.org/10.1016/j.jcs.2024.103852

Bera K.、Dutta P.、Sadhukhan S. 2022年。采用非电离物理因子进行种子引发：植物响应及其潜在生理机制。《植物细胞报告》41：53–73。https://doi.org/10.1007/s00299-021-02798-y Bourke P.、Ziuzina D.、Boehm D.、Cullen, P.J.、Keener K.，2018年。冷等离子体在安全可持续的食品生产中的潜力。《生物技术趋势》36：615–626。https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001

Bradford M.M.，1976年。利用蛋白质-染料结合原理快速、灵敏地定量微克级蛋白质的方法。《分析生物化学》72：248–254。https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Díaz-Leyva C.E.，Bacópulos-Mejía E.，Ruiz-Torres N.A.，Ibarra-Jiménez L.，Gonzales-Morales S.，Benavides-Mendoza A. 2017年。使用UV-B和UV-C辐照番茄种子：对萌发、活力和生长的影响。墨西哥农业科学杂志。8：105–118。 https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.75

Djeridane A. Yousfi M.，Nadjemi B.，Boutassouna D.，Stocker P.，Vidal N. 2006年。含有酚类化合物的若干阿尔及利亚药用植物提取物的抗氧化活性。《食品化学》97,4：654-660。 https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028

Fiutak G., Mohammadi X., Filipczak-Fiutak M., Jarzębski M., Sterczyńska M., Pratap-Singh A. 2024年. 采前脉冲光处理可提高苜蓿芽中的维生素C、叶绿素、类胡萝卜素和蛋白质含量。园艺科学 332: 113200. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113200

Foroughbakhch Pournavab R.、Bacópulos Mejía E.、Benavides Mendoza A.、Salas Cruz L.R.、Ngangyo Heya M. 2019年。紫外线辐射对墨西哥东北部常见物种种子萌发和幼苗生长的影响。《农学》。9：269。https://doi.org/10.3390/agronomy9060269

Ghazouani S.、Hannachi H.、Ben Nasri-Ayachi M.，2021年。突尼斯的 *Urtica pilulifera* L.在盐胁迫下的形态、生理和生化响应。南非植物学杂志 142：124–130。https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.017

Hadidi M., Palacios J.C.O., McClements D.J., Mahfouzi M., Moreno A. 2023年. 苜蓿：植物基食品蛋白质的可持续来源。食品科学与技术趋势 135: 202–214. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.023

Hernandez-Aguilar C., Dominguez-Pacheco A., Tenango M.P., Valderrama-Bravo C., Hernández M.S., Cruz-Orea A., Ordonez- Miranda J. 2021年. UV-C辐射对豆类种子、萌发及幼苗酚类化合物的影响表征。植物生长调节杂志 40: 642–655. https://doi.org/10.1007/s00344-020-10125-0

Jinkui F.E.N.G.、Decheng W.A.N.G.、Changyong S.H.A.O.、Zhang L.、Xin T.A.N.G.，2018年。冷等离子体处理对模拟干旱胁迫下苜蓿种子生长的影响。《等离子体科学与技术》20：035505。https://doi.org/10.1088/2058-6272/aa9b27

Kotilainen T.、Tegelberg R.、Julkunen-Tiitto R.、Lindfors A.、Aphalo P.J. 2008年。太阳紫外线A和UV-B对桤木和桦木叶片酚类物质的代谢物特异性影响。《全球变化生物学》14：1294–1304。https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01569.x

Kameswara Rao N.、Dulloo M.E.、Engels J.M. 2017年。影响种质库长期保存优质种子生产的因素综述。《遗传资源与作物进化》64：1061–1074。https://doi.org/10.1007/s10722-016-0425-9

Kondrateva N.P., Kasatkina N.I., Kuryleva A.G., Baturina K.A., Ilyasov I.R., Korepanov R.I., 2020年。播种前用紫外线辐射处理谷类作物种子的效果。载于 *IOP* 会议系列。《地球与环境科学》433：012039。https://doi.org/10.1088/1755-1315/433/1/012039

Lazar S.L., Mira S., Pamfil D., Martinez-Laborde J.B. 2014年。对两种墙生芝麻菜物种的人工老化种子批次进行萌发和电导率测定。《土耳其农业与林业杂志》38，857–864。https://doi.org/10.3906/tar-1402-76

Li Y.J., Wang T.C., Meng Y.R., Qu G.Z., Sun Q.H., Liang D.L., Hu S.B., 2017年。大气介质阻挡放电等离子体诱导小麦种子萌发并促进其生长。《等离子体化学与等离子体加工》37：1621–1634。https://doi.org/10.1007/s11090-017-9835-5

Lim Y.J., Lyu J.I., Kwon S.J., Eom S.H. 2021年. UV-A辐射对大豆芽中异黄酮和黄酮醇器官特异性积累及基因表达的影响。《食品化学》339: 128080.https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128080

Ling L、Jiafeng J、Jiangang L、Minchong S、Xin H、Hanliang S、Yuanhua D。冷等离子体处理对大豆种子萌发和幼苗生长的影响。《科学报告》。2014年7月31日；4(1):5859。

Liu B., Liu X.B., Li Y.S., Herbert S.J. 2013. 增强的UV-B辐射对大豆种子生长特性和产量构成因素的影响。Field Crops Res. 154: 158–163. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.08.006

Manmathan H.、Shaner D.、Snelling J.、Tisserat N.、Lapitan N. 2013. 病毒诱导的拟南芥基因同源物在小麦中的基因沉默鉴定出赋予更强耐旱性的基因。*J Exp Bot. 64*(5): 1381-1392。https://doi.org/10.1093/jxb/ert003

Mariz-Ponte N.、Mendes R.J.、Sario S.、Melo P.、Santos C.，2018年。适度的紫外线A波段补充照射有益于番茄种子和幼苗活力增强：对紫外线在种子技术中应用的贡献。园艺科学 235，357–366。https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.025

Mariz-Ponte N., Mendes R.J., Sario S., Correia C.V., Correia C.M., Moutinho-Pereira J., Melo P., Dias M.C., Santos C. 2021年。紫外线-A和紫外线-B补充处理对 番茄 生理、生化及分子特性的评估。《植物》。10：918。https://doi.org/10.3390/plants10050918

Mildaziene V., Ivankov A., Sera B., Baniulis D., 2022年。种子经非热等离子体处理影响的生化和生理植物过程。《植物》。11：856。https://doi.org/10.3390/plants11070856 Motrescu I., Lungoci C., Calistru A.E., Luchian C.E., Gocan T.M., Rimbu C.M., Bulgariu E., Ciolan M.A., Jitareanu G. 2024年。在不同电压条件下对苜蓿种子进行非热等离子体（非热等离子体）处理，会对芽苗生长和营养保健特性产生促进或抑制作用。《植物》。13：1140。 https://doi.org/10.3390/plants13081140

Neelamegam R. 和 Sutha T. 2015年。UV-C照射对花生（花生 L.）种子萌发、幼苗生长和生产力的影响。Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 4：430–443。

Niedźwiedź I.、Waśko A.、Pawłat J.、Polak-Berecka M. 2019年。冷等离子体抗菌活性研究现状。Polish J. Microbiol. 68：153–164。https://doi.org/10.33073/pjm-2019-028

Ort D.R.、Merchant S.S.、Alric J.、Barkan A.、Blankenship R.E.、Bock R.、Croce R.、Hanson M.R.、Hibberd J.M.、Long S.P.、Moore T.A.、2015年。重新设计光合作用，以可持续满足全球粮食和生物能源需求。Proceed. Nation Academ. Sci. 112，8529–8536。https://doi.org/10.1073/pnas.1424031112

Ozel H.B., Abo Aisha A.E.S., Cetin M., Sevik H., Zeren Cetin I. 2021年。延长UV-B辐射暴露时间对安纳托利亚黑松种子萌发和幼苗发育的影响。Envir. Monit. Assess. 193: 388. https://doi.org/10.1007/s10661-021-09178-9

Paparella S., Araújo S.S., Rossi G., Wijayasinghe M., Carbonera D., Balestrazzi A. 2015年。种子引发：现状与新视角。《植物细胞报告》34: 1281–1293. https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y。

Peykarestan B. 和 Seify M. 2012年。紫外线辐照对红豆种子萌发和生长、蛋白质含量、过氧化物酶和蛋白酶活性的影响。《国际科学与工程研究杂志》1: 107–113。

Rajkowski K.T. 和 Thayer D.W. 2001年。种子和芽苗经辐照后的苜蓿种子萌发与产量比，以及苜蓿芽的微生物贮藏品质。《食品保护杂志》64: 1988–1995。 https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.12.1988

Semenov A.、Korotkova I.、Sakhno T.、Marenych M.、Hanhur V.、Liashenko V.、Kaminsky V. 2020年。播前处理中的UV-C辐射对冬小麦（*Triticum aestivum* L.）种子生长过程基本指标的影响。《斯洛文尼亚农业学报》116: 49–58。 https://doi.org/10.14720/aas.2020.116.1.1563

Sera B.、Spatenka P.、Sěrý M.、Vrchotova N.、Hruskova I. 2010年。等离子体处理对小麦和燕麦萌发及早期生长的影响。《IEEE等离子体科学汇刊》38(10): 第2963-2968页。 https://doi.org/10.1109/TPS.2010.2060728

Staub A.M., 1963年。《从器官提取物和细菌体中提取、鉴定和测定碳水化合物》。载于：Masson et Compagnie，《实验室技术》，第1卷和第2卷，第1307–1366页。巴黎。

Sukthavornthum W.、Bodhipadma K.、Noichinda S.、Phanomchai S.、Deelueak U.、Kachonpadungkitti Y.、Leung D.W. 2018年。UV-C照射诱导了小植株芽增殖和离体开花的变化源自包被微芽和未包被微芽的波斯紫罗兰。园艺科学 233:9–13.https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.027

Sun K., Peng Y., Wang M., Li W., Li Y., Chen J., 2024年。红光和蓝光对苜蓿芽生长及抗氧化活性的影响。《园艺学》10：76。https://doi.org/10.3390/horticulturae10010076

Tang X., Liang F., Zhao L., Zhang L., Shu J., Zheng H., Qin X., Shao C., Feng J., Du K., 2016年。低温等离子体（LTP）对苜蓿种子（紫花苜蓿L.）发芽率和活力的促进作用。载于：Li, D., Li, Z.（编），《农业计算机与计算技术（第九届）》。CCTA 2015。IFIP信息与通信技术进展第479卷。施普林格，Cham。https://doi.org/10.1007/978-3-319-48354-2_53

Tang C.J.、Luo M.Z.、Zhang S.、Jia G.Q.、Sha T.A.N.G.、Jia Y.C.、Hui Z.H.I.、Diao X.M. 2023年。狗尾草EMS突变体的叶绿素含量、气孔导度和光合作用的变化。《农业科学学报》22：1618–1630。https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.10.014 Tucak M.、Ravlić M.、Horvat D.、Čupić T. 2021年。通过植物育种改善苜蓿和红三叶的饲草营养品质。《农学》11：2176。https://doi.org/10.3390/agronomy11112176

Verdaguer D.、Jansen M.A.、Llorens L.、Morales L.O.、Neugart S. 2017年。紫外线-A辐射对高等植物的影响：探索已知的未知领域。《植物科学》255：72–81。https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.11.014

Yao X., Chu J., He X., Si C. 2014年. 不同生长阶段暴露于增强 UV-B 辐射下冬小麦的籽粒产量、淀粉、蛋白质和营养元素浓度。《谷物科学杂志》60: 31–36. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.012

Yan Y. 2020年. 豆科植物长期暴露于太阳蓝光和紫外线辐射：连续两代中对干旱的预适应及种质材料依赖性响应。赫尔辛基大学。http://urn.fi/URN:ISBN:978- 951-51-6933-4