

川续断种子发芽过程中生理生化变化研究

吴文芳^{1,2} 李隆云^{1*} 白志川²

(1. 重庆市中药研究院 中药种植研究所/重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心, 重庆 400065; 2. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400715)

摘要: 以川续断种子为材料, 研究川续断种子发芽过程中的部分生理指标变化, 探讨盐胁迫对川续断种子发芽的影响, 为川续断的生产和研究提供一些基础材料。结果表明: 随着盐浓度的升高种子的发芽率逐渐下降; 随着川续断种子萌发时间的延长, 种子的含水量逐渐增加, 可溶性糖含量从第5天起迅速升高, 之后缓慢下降; 可溶性蛋白质、游离氨基酸总体呈上升趋势; 丙二醛(MDA)含量先升高后下降的变化过程; 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性整体都表现出上升趋势。

关键词: 川续断种子; 盐胁迫; 发芽; 生理指标

中图分类号: Q949.781.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)01-0082-05

A Study on the Change of Physiology and Biochemistry during the Process of Germination of *Dipsacus asperoides* Seed

WU Wen-fang^{1,2} , LI Long-you^{1*} , BAI Zhi-chuan²

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica/Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwestern University, Chongqing 400715, China)

Abstract: This paper discusses the influence of salt stress on *Dipsacus asperoides* seed germination by germination. The changes in physiological indexes of *Dipsacus asperoides* during seed germination were studied, so as to provide some basic materials for the production and research of *Dipsacus asperoides*. The results showed that, with the increase of salt concentration, the seed germination rate decreased; with the extension of seed germination time, the seed water content increased gradually, the content of soluble sugar from the fifth day increased quickly, and then decreased; soluble protein and free amino acids overall showed an increasing tendency as a whole; the activity of SOD, POD and CAT increased gradually.

Key words: *Dipsacus asperoides*; salt stress; seed germination; physiological indexes

川续断(*Dipsacus asperoides* C. Y. Cheng et T. M. A i) 是川续断科川续断属植物, 为多年生草本植物, 野生于山野及路旁, 以根茎入药。川续断始载于神农本草经, 被列为上品, 具有补肝肾、强筋骨、续折损、止崩漏、安胎等功效^[1]。它主要产在湖北、湖南、江西、广西、云南、贵州、四川和西藏等省区。近年来由于过度采挖, 使野生资源愈来愈少, 选育和栽培优良的川续断品种成了必然。近几年, 关于川续断种子的研究主要集中在发芽特性实验^[2-3], 对于种子萌发过程中的生理生化变化的材料很少。本文主要探索了川续断种子萌发期间的生理生化变化规律, 研究其动态变化有助于对其萌发机理的进一步了解, 为提高川续断的播种及培育提供一定的理论依据。

收稿日期: 2011-08-13 修回日期: 2011-11-24

基金项目: 重庆市重大攻关项目(CSTC 2009AA5052) 和重庆市科技人员服务企业行动项目(2009GJF10045)

作者简介: 吴文芳(1984—), 女, 硕士生, 主要从事药用植物栽培研究, E-mail: wuwenfanglove1314@163.com; * 通讯作者: 李隆云, 研究员, 博士, E-mail: lilongyun8@163.com。

1 材料与方 法

1.1 材 料

川续断试验种子于 2010 年 10 月采自重庆市武隆县仙女镇荆竹村杨家坝川续断种植基地,经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定为川续断科植物川续断(*Dipsacus asperoides* C. Y. Cheng et T. M. Ai)。川续断种子为瘦果椭圆楔形,有四棱,浅褐色,常冠以宿存的花萼。随机抽取种子 100 粒,测量其大小:种子的平均长度为 3.74 mm,平均宽度为 1.06 mm,千粒质量 4.51 g。

1.2 方法与测定项目

(1) 采用培养皿纸上发芽的方法。选择外观形态(大小、性状、色泽等)一致的足量的干燥种子,称取干质量后再将种子均匀排列于直径为 9 cm 铺有 3 层发芽滤纸的消毒培养皿中,每个培养皿 50 粒种子,置于 25 ℃ 恒温光照培养箱中进行培养。培养期间,每天观察,保持滤纸湿润,以提供充足的水分,种子有发霉时取出洗净再放回,去除腐烂种子,并记录相应数据。发芽计数的时间以胚根长为种子长的 1/2 作为发芽标准进行统计,当连续 3 d 无新发芽种子出现即视为发芽过程结束。

$$\text{发芽率} = (\text{发芽种子数} / \text{实验供试总种子数}) \times 100\% \quad (1)$$

(2) 盐胁迫试验:设 0.02、0.03、0.05、0.07、0.09、0.1 mol/L 的 NaCl 溶液,蒸馏水做对照,发芽方法同(1)。

(3) 生理生化测定指标:在种子发芽的不同时期每天对不同发芽日数的供试材料进行以下各指标的测定,每次重复 3 次,随机抽取。可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[4],MDA 含量测定用硫代巴比妥酸法^[5],可溶性蛋白质含量测定采用考马斯基亮蓝 G-250 染色法^[4],游离氨基酸含量测定用茚三酮显色法^[4],POD 的活性测定采用愈创木酚法^[5],CAT 的活性测定采用分光光度法^[5],SOD 的活性测定采用氮蓝四唑法^[5]。

2 结果和讨论

2.1 盐胁迫对川续断种子发芽率的影响

从表 1 可以看出,随着 NaCl 浓度的逐渐升高,川续断种子的发芽率明显下降,并且 0~0.05 mol/L 和 0.07~0.09 mol/L 的变化程度存在显著差异。无盐胁迫时发芽高峰期在 5~8 d,当盐浓度达到 0.09~1 mol/L 时,发芽高峰期推迟到发芽的 12~14 d。由此可见,盐胁迫使川续断种子发芽的时间推迟而且发芽率明显下降。

表 1 盐胁迫对川续断种子萌发的影响
Tab.1 Teasel salt stress on seed germination

盐浓度/(mol·L ⁻¹) Salt density	发芽率/% Germination rate			
	重复 1 Repet1	重复 2 Repet2	重复 3 Repet3	平均值 Mean
0	96	94	98	96
0.02	90	92	94	92
0.03	86	86	90	87.33
0.05	84	86	84	84.67
0.07	70	72	76	72.67
0.09	68	72	64	68
0.10	64	60	62	62

2.2 川续断种子萌发过程中可溶性糖含量变化

可溶性糖含量在一定程度上可以反映植物体内碳水化合物的转化及有机物代谢情况^[6]。从图 1 可以看出,川续断种子在发芽处理后 1~4 d 可溶性糖含量基本处于稳定状态,第 5 天开始大量种子开始露白,其可溶性糖的含量迅速上升增加到最大值,这就说明在发芽过程中淀粉在水解酶作用下变为可溶性糖,为种子顺利萌发和生长提供能量,之后呈不断下降趋势,可能与部分可溶性糖转化成其他物质满

足种子的萌发和幼苗的形态建成有关。它的这种变化趋势是胚生命活动正常进行的表现。

2.3 川续断种子萌发过程中可溶性蛋白质含量的变化

由图 2 所示,川续断种子在发芽处理后的第 2 天可溶性蛋白质的含量开始下降,第 3~5 天继续下降,此时种子已经萌发,说明种子中贮藏的蛋白质大量降解,使种子细胞渗透势降低,促进种子继续吸收水分,同时也为种子发芽提供能量。第 9 天开始出现上升趋势,此时幼苗开始了光合作用,新蛋白质开始合成。从整个发芽进程来看,川续断种子中的可溶性蛋白质含量呈先减少后增加的变化趋势。

2.4 川续断种子萌发过程中游离氨基酸总量的变化

在干种子中游离氨基酸的含量很低,随着种子不断萌发,种子内的游离氨基酸含量随着蛋白质的降解而增加。在整个萌发过程中,游离氨基酸含量随着萌发时间的推进而逐渐增加,变化趋势比较平缓,但从第 6 天开始游离氨基酸含量骤升,说明从第 6 天开始,种子内的生理代谢水平提高了,可溶性蛋白质大量分解从而使游离氨基酸的迅速积累来满足种子萌发过程中的代谢需求(图 3)。

2.5 川续断种子萌发过程中 MDA 含量的变化

丙二醛(MDA)含量的多少代表了膜脂过氧化程度,间接地反映了植物组织抗氧化的能力^[7]。在种子的萌发初期,MDA 含量逐渐增多,第 3 天时其含量最高,说明萌发刚开始的时候,种子中的一些保护酶类物质的含量不高,MDA 含量的上升是为了加强机体防御能力,此后 MDA 含量逐渐降低,说明膜的受损程度较轻,保护酶开始发挥作用,保证了种子的正常萌发和生长。

2.6 川续断种子萌发过程中 SOD、POD、CAT 活性的变化

过氧化物酶活性的大小直接影响到种子的萌发与休眠以及种子的抗病、抗逆能力,是研究种子生活力的常用参考指标^[8]。

如图 5,在川续断种子萌发的前 3 d,POD 活性缓慢上升,从第 4 天开始有较大的增幅,这和种子在第 4 天开始露白,胚根突破种皮是相一致的。而后活性增长迅速,到第 9 天达到最大值,在整个种子萌发过程中 POD 活性呈上升趋势,这与大豆、花椰菜等种子萌发期的 POD 活性变化相似^[9-10]。

CAT 是机体清除超氧自由基和羟自由基的酶,可以减轻膜的伤害^[11]。从图 6 可以看出,在种子萌发初期的 1~4 d,CAT 活性逐渐上升,5~7 d 有所下降,之后又大幅上升。表明 CAT 活性在种子萌发中

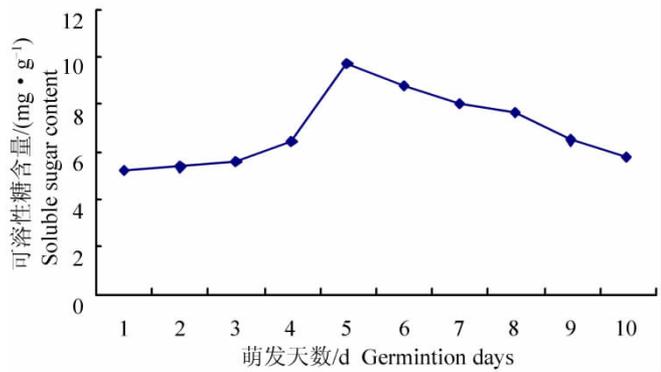


图 1 种子萌发过程中可溶性糖含量动态变化

Fig. 1 Dynamic change of soluble sugar content in the bud of radish

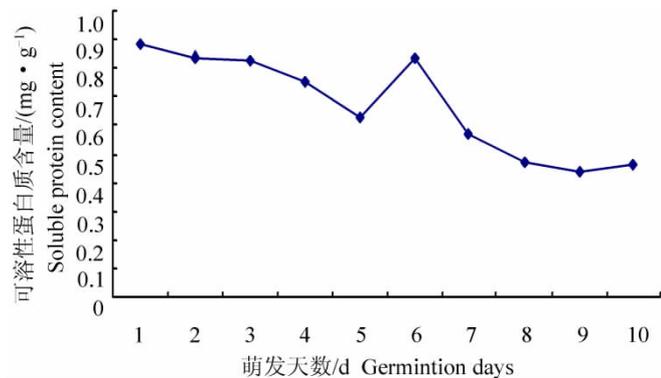


图 2 种子萌发过程的可溶性蛋白质含量变化

Fig. 2 Dynamic change of soluble protein content in the bud of radish

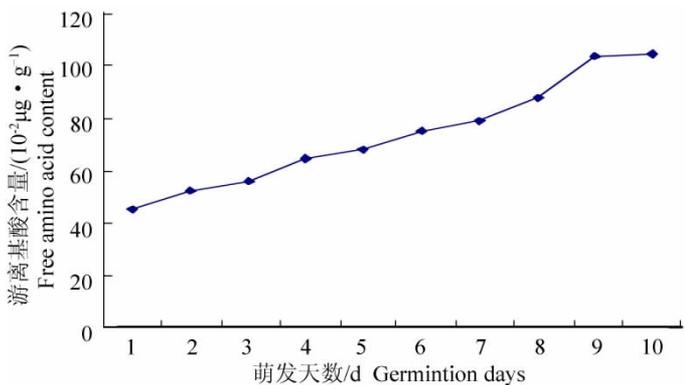


图 3 种子萌发过程中游离氨基酸总量的动态变化

Fig. 3 Dynamic change of free amino acids content in the bud of radish

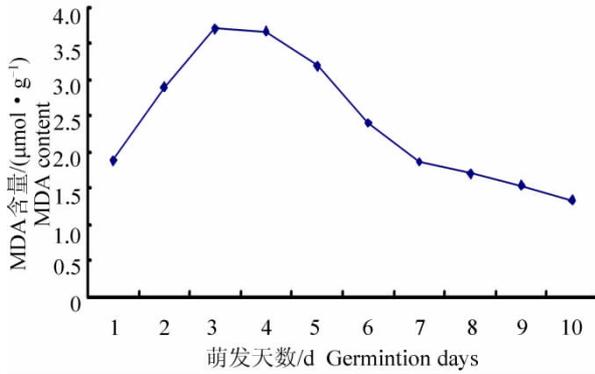


图 4 种子萌发过程中 MDA 含量的动态变化

Fig. 4 Dynamic change of MDA content in the bud of radish

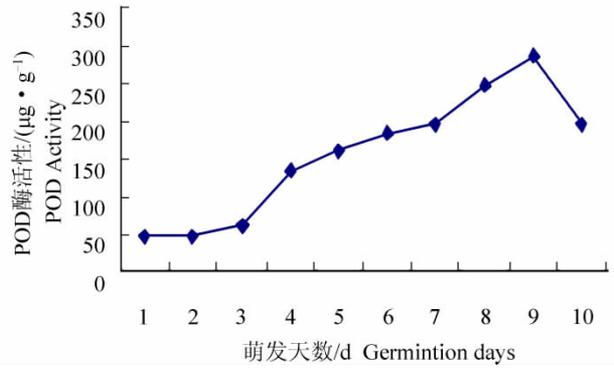


图 5 种子萌发过程中 POD 活性动态变化

Fig. 5 Dynamic change of POD Activity in the bud of radish

后期才明显活跃,并随着胚的活力的增强而增大。

SOD 是普遍存在于植物体内的一种清除超氧自由基的保护酶。由图 7 可知,在种子萌发初期的 1~4 d, SOD 呈缓慢上升趋势,在第 5 天时骤然升高,在第 6 天达到最高值,之后略有下降,变化趋势平稳。SOD 活性总体呈上升趋势,中间有波动,萌发结束时的活性比萌发前高 2.54 倍。

从以上的结果分析看出,在川续断种子萌发过程中,种子通过增强 POD、SOD、CAT 活性,降低过氧化作用对细胞的伤害,从而提高了种子抵抗不良环境的能力,为种子的萌发起到了保护作用。

3 结论与讨论

(1) 各种植物的耐盐性由植物的遗传性决定,其耐盐性的大小不仅与植物的品种有关,还与植物的发育阶段有着密切关系^[12]。实验证明,不同的盐胁迫条件对川续断种子的发芽率的影响是不同的,随着盐浓度的增加,种子的发芽率逐渐降低,幼苗的长势越来越差。这表明高盐浓度抑制了川续断种子的萌发。因此,在田间播种时要注意土壤盐浓度不要高于 0.05 mol/L,否则会影响种子的发芽。

(2) 种子萌发过程中的动态变化。种子萌发是一个旺盛的生长和生理生化变化的过程。在种子的萌发过程中,种子内贮藏的营养物质在酶的作用下开始大量消耗,分解成小分子,为胚生长提供必需的养分^[13]。

可溶性糖的含量变化反映了种子体内可利用态物质和能量的供应基础。川续断种子和其他大多数种子一样,种子萌发初期是一个异养过程,只能消耗种子内贮藏的糖类或通过其他物质转换成糖类,为种子的萌发提供能量。因此,在川续断种子的整个萌发过程中,随着萌发时间的延长,可溶性糖含量逐渐上升。

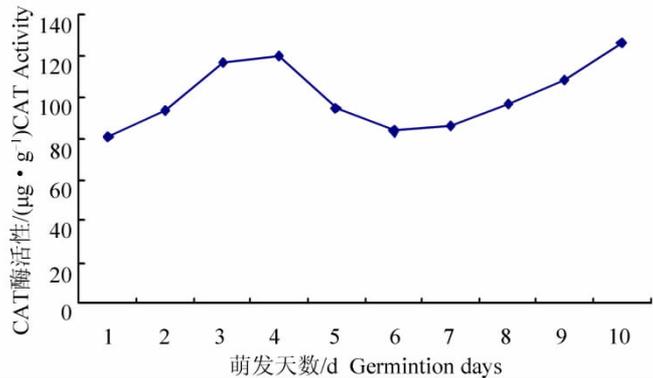


图 6 种子萌发过程中 CAT 活性动态变化

Fig. 6 Dynamic change of CAT Activity in the bud of radish

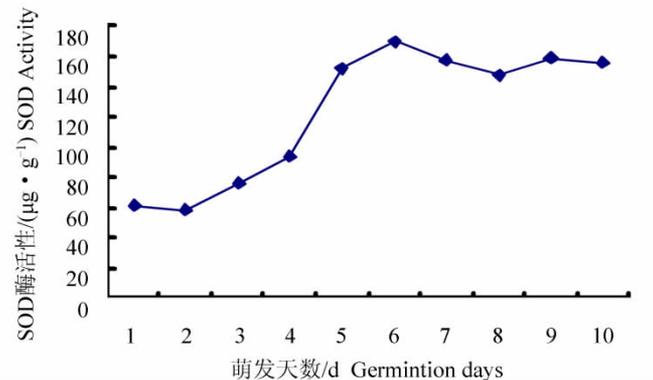


图 7 种子萌发过程中的 SOD 活性动态变化

Fig. 7 Dynamic change of SOD Activity in the bud of radish

本研究表明,在川续断种子萌发过程中,种子内的可溶性蛋白质在蛋白酶活性的作用下不断被分解成氨基酸,而这些游离氨基酸又不断合成新的蛋白质用于种子萌发过程中的形态建成。

酶活性的变化在种子萌发过程中是一种主要现象。实验结果表明,在川续断种子萌发过程中,SOD、POD、CAT 作为种子体内的保护酶其活性均呈上升趋势,基本都在萌发的第 4 天酶活性开始大幅上升,这就说明随着胚细胞的不断分裂和生长,这 3 种酶的活性在不断增强,从而为种子内代谢活动的正常进行提供了基础。

MDA 是脂质过氧化的产物,是对细胞膜破坏程度的一个很好体现。在本实验中,MDA 的含量呈下降趋势,与 SOD、POD、CAT 的变化正好相反。这就说明在川续断种子的萌发过程中,机体是通过提高 SOD、POD、CAT 酶的活性降低 MDA 含量来提高种子抗逆境的能力。综上所述,川续断种子萌发过程中的代谢活动是比较活跃和复杂,了解了种子萌发过程中的生理生化变化规律以后,就可以在农业生产中适时播种,为种子的萌发创造良好的环境。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 296.
- [2] 张雪, 李隆云, 陈大霞, 等. 川续断种子吸水特性及萌发特性研究[J]. 种子, 2010, 29(9): 21-23.
- [3] 林先明, 廖朝林, 谢玲玲, 等. 续断种子不同贮藏温度对发芽率的影响[J]. 湖北农业科学, 2004(6): 70.
- [4] 孔祥生, 易现锋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [5] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 7.
- [6] 田宏, 刘洋, 张鹤山, 等. 硬雀麦 (*Bromus rigidus* Roth.) 种子萌发吸水特性和萌发温度的研究[J]. 种子, 2008, 27(12): 22-24, 29.
- [7] 蒋明义, 郭绍川. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 144-150.
- [8] 郑光华, 史忠礼, 赵同芳. 农业试验统计[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 448.
- [9] 周化斌. 大豆种子萌发中过氧化物酶同工酶的动态研究[J]. 种子, 2002, 21(1): 9-12.
- [10] Luisal C. Sunflower seedlings subjected to increasing water - deficit stress oxidative stress and defense mechanisms[J]. *Physiol Plant*, 1995, 93: 25-30.
- [11] 刘凤. 毛竹种子萌发过程中生理生化特性变化的研究[J]. 种子, 2009, 28(2): 12-14.
- [12] Cha Rtzoulakis K, Loupassaki M. Effects of NaCl salinity on germination, growth, gas exchange and yield of Green house eggplant[J]. *Agric Water Mgmt*, 1997, 32: 215-225.
- [13] Perry D A. Commentary on ISTA vigour test committee collaborative trials[J]. *Seed Sci. & Technol*, 1995(12): 301-308.