

# 沙葱种子发育过程中生理生化变化规律

杨忠仁, 张凤兰, 郝丽珍, 苗春乐, 刘建文, 赵清岩

(内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古自治区野生特有蔬菜种质资源与种质创新重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010019)

**摘 要:**以花后 10~40 d 的沙葱种子为试材, 研究其发育过程中形态及生理生化指标的变化规律, 以期探明沙葱种子的适宜采收期。结果表明:发育过程中沙葱种子和果实的含水量及种子千粒重均呈下降趋势;花后 35~40 d 时, 种皮由灰褐色转为黑色;花后 25~40 d 时种子已具萌发能力, 发芽率 16.67%~26.67%;随着发育天数的增加, 沙葱种子蛋白质、脂肪、淀粉和可溶性糖含量及脂氧合酶(LOX)活性呈上升趋势, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性呈先下降后升高的趋势, 过氧化物酶(POD)活性和丙二醛(MDA)含量呈先上升后下降的趋势;花后 35~40 d, 生理生化指标趋于稳定, 种子已达到生理成熟;因此, 沙葱种子在花后 35~40 d 即可采收, 为适宜的采收期。

**关键词:**沙葱种子;发育过程;生理生化;采收期

**中图分类号:**S 633.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0005-05

沙葱(*Allium mongolicum* Regel)属百合科葱属多年生旱生植物, 又名蒙古韭, 其富含多种营养成分和葱属植物特有的活性物质, 是内蒙古自治区农牧区百姓四季的主要蔬菜之一, 也是近年来野菜加工的主要种类之一。其既可分株繁殖, 又可种子繁殖。前者简单、快速, 当年即可采收, 但繁殖系数低;后者虽繁殖系数高, 但由于果实成熟后开裂, 种子易落地;因此确定沙葱种子适宜的采收期, 不仅可避免过早收获造成种子成熟度差、

活力低、质量差, 亦可避免因收获过晚造成的种子产量下降等问题<sup>[1-4]</sup>。该试验通过研究沙葱种子发育过程中形态及生理生化指标的变化规律, 来确定其种子最佳采收期。掌握适宜采收期对保证沙葱采种质量及种子寿命的延长有重要的实践意义, 同时还对丰富葱属蔬菜种子生理的研究有一定的理论意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为内蒙古农业大学科技园区盛花期沙葱。

### 1.2 试验方法

沙葱开花后, 定期标记每朵花的开花日期, 同时摘取从标记始期至标记后发育 10、15、20、25、30、35、40 d 的果实和种子, 分别测定其果实单粒重、种子千粒重、含水量和果实长度、宽度、发芽率;及种子蛋白质、脂肪、淀粉、可溶性糖含量;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量<sup>[5]</sup>。

**第一作者简介:**杨忠仁(1980-), 男, 内蒙古乌兰察布人, 博士, 副教授, 研究方向为蔬菜种质资源与种质创新。E-mail: yangzhongren\_200@163.com

**责任作者:**郝丽珍(1960-), 女, 博士, 教授, 现主要从事蔬菜种质资源与种质创新工作。E-mail: haolizhen\_1960@163.com

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(30660110);教育部科学技术研究重点资助项目(206027);内蒙古自然科学基金资助项目(2010MS0301)。

**收稿日期:**2014-04-29

**Abstract:** Taking lettuce as material, by hydroponic experiments, the effect of heavy metal elements Cu, Cr and Pb on seed germination and seedling growth were studied. The results showed that there was no significant difference ( $P > 0.05$ ) in germination index among treatments at the low concentration ( $\leq 50$  mg/L) of Cu, Pb solution. The inhibitory effect of Cr solution was the most obvious, and with the increase of the concentration, the inhibition had risen sharply. The inhibitory effect of the three kinds of heavy metal solution on lettuce seedlings root were significantly greater than bud. The seedling root length and the shoot length were decreased, with the increase of salt concentration of heavy metals. And the toxicity of three kinds of heavy metal salts was  $\text{KCr}_2\text{O}_7 > \text{Pb}(\text{NO}_3)_2 > \text{CuSO}_4$ .

**Key words:** heavy metal; lettuce (*Lactuca sativa*); seed germination; seedling growth; inhibiting effect

## 1.3 项目测定

1.3.1 脂氧合酶(LOX)活性测定 参照张小侠等<sup>[6]</sup>的方法提取粗酶液,15 000 g 低温离心 10 min,上清液用于测酶活性。反应液组成:0.1 mL tween-20 分散于 0.2 mol/L 硼酸缓冲液 10 mL 中(pH 9.0),加入 0.1 mL 亚油酸充分混匀,再加入 1.0 mol/L NaOH 0.3 mL,充分震荡,用 HCl 将 pH 调至 6.2,稀释并定容至 200 mL。测酶活性时,将含有 0.1 mL 酶液和 0.5 mL 的底物混合置于 25℃的水浴中保温 4 min,加入 2.4 mL 的无水乙醇终止反应,再稀释至 4 mL,用分光光度计在 25℃下测定 234 nm 处的光密度值,记录 4 min 内 OD 值变化,以每分钟 OD 变化 0.01 为 1 个酶活力单位。

1.3.2 其它酶及丙二醛含量测定 过氧化氢酶(CAT)活性采用比色法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定;硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量<sup>[5]</sup>。

## 1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 软件进行处理并作图。

## 2 结果与分析

## 2.1 沙葱种子在发育过程中形态指标的动态变化

由图 1 可以看出,沙葱种子及果实各形态指标随发育天数的增加均呈下降的趋势,其种子和果实含水量 30 d 后急剧下降,40 d 时种子和果实含水量分别达到 15.58%和 22.55%;图 2 表明,种子千粒重在 25~40 d 急剧减少,40 d 时种子千粒重为 2.613 g;图 3 表明,果实平均单粒重在 10~40 d 呈下降趋势;由图 4 可以看出,果实的长度、宽度在 10~15 d 呈增加趋势,15 d 时达到最大值,15~40 d 呈下降趋势。

由图 5 可以看出,沙葱种子在 10~20 d 发芽率为 0,此期种子未完全发育成熟,25~40 d 发芽率为 16.67%~26.67%。发芽率不高,可能与种子休眠有关。

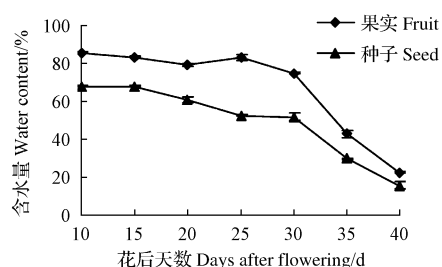


图 1 沙葱种子发育过程中果实及种子含水量的变化

Fig. 1 The change of the water content of seeds and fruits of *Allium mongolicum* during development

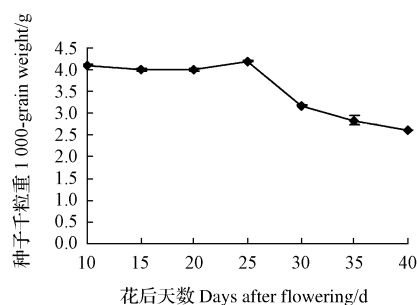


图 2 沙葱种子发育过程中种子千粒重的变化

Fig. 2 The change of 1 000-grain weight of *Allium mongolicum* during development

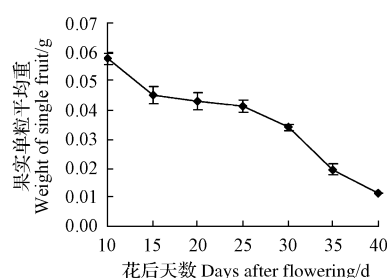


图 3 沙葱种子发育过程中果实单粒重的变化

Fig. 3 The change of the weight of single fruit of *Allium mongolicum* during development

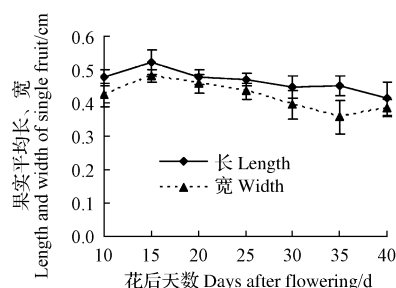


图 4 沙葱种子发育过程中单粒果实长、宽的变化

Fig. 4 The change of length and width of single fruit of *Allium mongolicum* during development

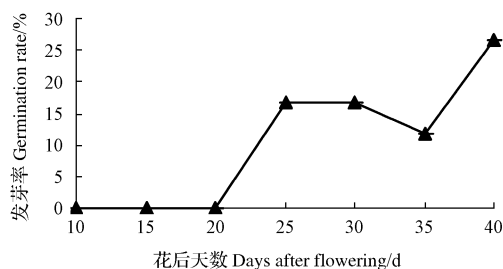


图 5 沙葱种子发育过程中发芽率的变化

Fig. 5 The change of the germination rate of *Allium mongolicum* seeds during development

综上所述,沙葱种子及果实在发育 35~40 d 时含水量、鲜重和长度、宽度降到最低值,且果实开裂,种子由灰褐色转变为黑色,在形态上已接近成熟。

## 2.2 沙葱种子在发育过程中生理生化指标的动态变化

由图 6~9 可以看出,沙葱种子在花后 35~40 d 时,其蛋白质、淀粉含量经积累后均趋于稳定,而脂肪、可溶性糖含量变化显著。

由图 10~12 可以看出,SOD、CAT 活性在种子发育 10~35 d 时,呈先下降后升高的趋势,在 35~40 d 时,POD 活性下降幅度较大,SOD 活性略有下降,CAT 活性略有上升。

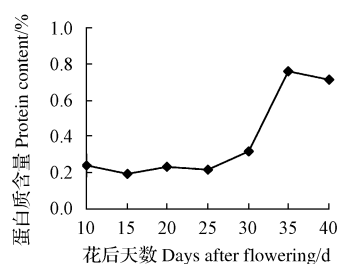


图 6 沙葱种子发育过程中蛋白质含量的变化

Fig. 6 The change of protein content of *Allium mongolicum* seeds during development

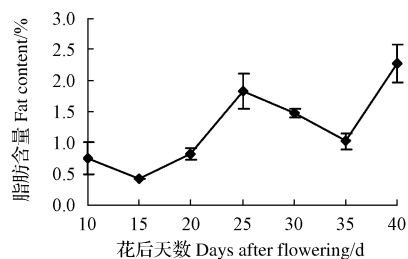


图 7 沙葱种子发育过程中脂肪含量的变化

Fig. 7 The change of fat content of *Allium mongolicum* seeds during development

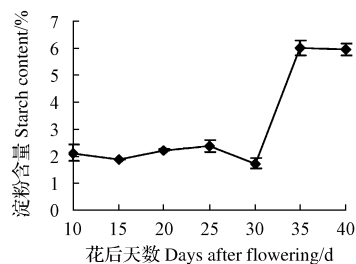


图 8 沙葱种子发育过程中淀粉含量的变化

Fig. 8 The change of starch content of *Allium mongolicum* seeds during development

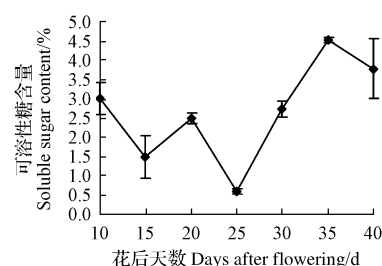


图 9 沙葱种子发育过程中可溶性糖含量的变化

Fig. 9 The change of soluble sugar content of *Allium mongolicum* seeds during development

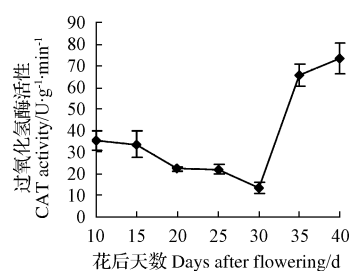


图 10 沙葱种子发育过程中 CAT 活性的变化

Fig. 10 The change of CAT activity of *Allium mongolicum* seeds during development

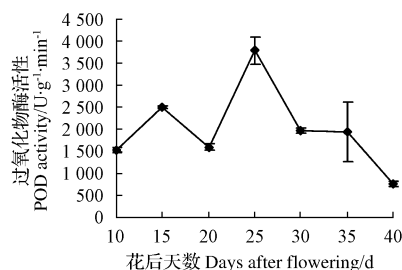


图 11 沙葱种子发育过程中 POD 活性的变化

Fig. 11 The change of POD activity of *Allium mongolicum* seeds during development

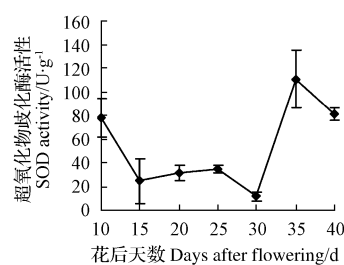


图 12 沙葱种子发育过程中 SOD 活性的变化

Fig. 12 The change of SOD activity of *Allium mongolicum* seeds during development

由图 13、14 可以看出, LOX 活性在 10~40 d 呈上升趋势, 其中 30~40 d 急剧升高; MDA 含量在 10~30 d 活性呈先上升后下降的趋势, 30~40 d 缓慢下降。

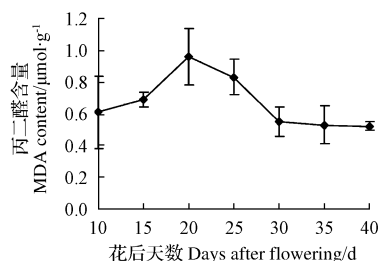


图 13 沙葱种子发育过程中 MDA 含量的变化

Fig. 13 The change of MDA content of *Allium mongolicum* seeds during development

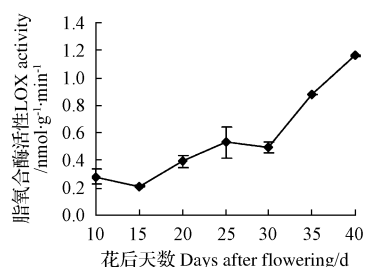


图 14 沙葱种子发育过程中 LOX 活性的变化

注:以生成的氢过氧化物为标准单位。

Fig. 14 The change of LOX activity of *Allium mongolicum* seeds during development

综上所述,沙葱种子在发育 35~40 d 中大部分生理生化指标的含量和活性变化较小,表明该期的生理生化反应趋于稳定,种子已接近生理成熟,此期即可采收。

### 3 讨论

种子成熟脱落是种子适应环境和进行物种繁衍的重要手段,但会给种子收获带来很大的困难,而收获过早、过晚都会造成种子产量和品质的下降,因此种子适宜收获期的确定是解决这一难题的关键<sup>[7]</sup>。目前,种子适宜收获期判定指标的筛选是种子研究领域的重点,很多指标都被用来确定适宜收获时间。Eastin 等<sup>[8]</sup>报道在种子胎盘区域形成黑层是高粱种子生理成熟的一个准确的标志;王颖<sup>[7]</sup>也认为荚果变为浅棕色和种子变为黑色可作为广布野豌豆生理成熟的一个标志。Fraser 等<sup>[9]</sup>研究认为种子含水量可作为大豆生理收获期的一个准确的指标。在该研究中,沙葱种子颜色随着发育天数的增加,由白色逐渐转变为灰褐色,最后在成熟时变为黑色,同时种子含水量在花后 40 d 达到最低值,为 15.58%,此时部分果实果皮已开裂。杨期和等<sup>[10]</sup>认为,正常型种

子在成熟时含水量通常在 15%~20%,进一步脱水不会对种子造成伤害。因此,沙葱花后发育 35~40 d、种子变为黑色都可作为确定沙葱种子适宜收获期的准确简捷的指标,而种子千粒重、长宽指标和生理生化指标操作复杂,不适于作为其采收期判定指标。

正常型种子的发育可分为组织分化、细胞扩大和成熟脱水 3 个阶段<sup>[10]</sup>。种子在成熟脱水阶段发生糖、蛋白质、脂类和抗氧化系统等生理生化的变化,这些变化对于保护种子组织免受脱水伤害具有重要的意义<sup>[11]</sup>。沙葱种子成熟脱水阶段为花后的 25~40 d,在此阶段含水量、千粒重、果实单粒重和体积急剧下降,贮藏物质大量积累,种子开始具有萌发能力。宋松泉等<sup>[11]</sup>认为,脱水对大麦和小麦谷粒萌发具有重要的作用,它们未成熟的种子需经脱水后才能萌发,而新鲜的种子不能萌发,沙葱种子也具有同样的情况。

脱水过程中有 AOS 产生, AOS 对生物大分子、细胞膜等会造成伤害,而抗氧化系统被认为在抵御脱水伤害时有很重要的作用<sup>[12-13]</sup>。脱水会激发细胞内防御体系, CAT、SOD 活性增加, AOS 得到有效清除,从而减轻了 AOS 的伤害,膜质氧化物相应减少。在沙葱种子的脱水过程中 SOD、CAT 活性增加, MDA 含量降低,这与 Niedzwidz 等<sup>[14]</sup>研究小麦脱水过程中 SOD 和 CAT 活性变化结果相一致,也与罗银玲等<sup>[15]</sup>研究玉米胚发育时 SOD 活性变化相一致,但与桂花<sup>[16]</sup>、银槭<sup>[17]</sup>、木豆<sup>[18]</sup>、板栗<sup>[19]</sup>和银杏<sup>[20]</sup>种子变化不一致,可能是由种子的类型不同造成的。沙葱种子的 POD 活性在脱水过程中呈下降趋势,这与板栗<sup>[19]</sup>、桂花<sup>[16]</sup>、银杏<sup>[20]</sup>种子脱水时 POD 活性变化趋势一致。

MDA 是膜脂氧化的最终产物,其不仅能加剧膜脂过氧化,而且能使酶的催化功能丧失,膜的透性增大,细胞膜脂过氧化作用的启动需要 LOX 的参与,不饱和脂肪酸在有氧的条件下经 LOX 催化生成膜脂过氧化物, LOX 又被其活化,但当膜脂浓度过高时,也会导致 LOX 的自我毁灭<sup>[21]</sup>。在脱水过程中,沙葱种子的 MDA 含量随着含水量的下降而下降,这与小麦<sup>[14]</sup>、玉米胚<sup>[15]</sup>、银杏<sup>[20]</sup>种子脱水时的变化趋势一致,但与顽拗性种子板栗<sup>[19]</sup>、桂花<sup>[16]</sup>的变化趋势不同。在沙葱种子发育初期 LOX 活性随着脱水进行而上升,可能未启动膜脂过氧化,因而 MDA 含量处于较恒定的状态,而在花后 10 d MDA 含量上升,表明 LOX 已启动膜脂过氧化作用,故在脱水过程中 SOD、CAT 活性增加, MDA 含量下降,膜脂过氧化程度减轻,在发育后期 LOX 活性继续增强,说明膜脂过氧化浓度不高,否则 LOX 会发生自我毁

灭。这与桂花种子发育过程中 LOX 活性先上升后下降变化趋势不一致,同时 LOX 还与果实成熟和组织衰老有关,但在沙葱种子成熟中的更全面的作用还有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] Hampton J G. Herbage seed lot vigour; Do problems start with seed production[J]. J Appl Seed Produ, 1991(9): 87-93.
- [2] Andersen S, Andersen K. The relationship between seed maturation and seed yield in grasses[C]//In: Hebblethwaite P. D. ed. Seed Production, 1980: 151-172.
- [3] Hebblethwaite P D, Ahmed M H. Optimum time of combine harvesting for amenity grasses grown for seed[J]. Journal of the British Grassland Society, 1978, 33: 35-40.
- [4] Pegler R A D. Harvest ripeness in grass seed crops[J]. J the British Grassld Society, 1976, 31: 7-13.
- [5] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 185-186.
- [6] 张小侠, 孙骊, 王淑丽, 等. 大豆脂肪氧化酶抑制方法研究[J]. 武汉食品工业学院学报, 1997(4): 5-9.
- [7] 王颖. 广布野豌豆荚果和种子发育动态及种子适宜收获时间的确定[D]. 哈尔滨: 东北师范大学, 2008: 15-17.
- [8] Eastin J D, Hultquist J H, Sullivan C Y. Physiologic maturity in grain sorghum[J]. Crop Sci, 1973, 13: 175-178.
- [9] Fraser J, Egli D B, Leggett J E. Pod and seed development in soybean cultivars with differences in seed size[J]. Agron J, 1982, 74: 81-85.
- [10] 杨期和, 叶万辉, 宋松泉, 等. 种子脱水耐性及其与种子类型和发育阶段的相关性[J]. 西北植物学报, 2002, 22(6): 1518-1525.
- [11] 宋松泉, 傅家瑞. 成熟脱水对种子发育和萌发的作用[J]. 植物学通报, 1998, 15(2): 23-32.
- [12] 白宝璋, 徐淑芬. 烟草生理[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [13] 宋松泉, 龙春林, 殷寿华. 种子的脱水行为及其分子机制[J]. 云南植物研究, 2003, 25(4): 456-479.
- [14] Niedzwiedz S I, Bogatek L R, Come D, et al. Effects of drying rate on dehydration sensitivity of excised wheat seedling shoots as related to sucrose metabolism and antioxidant enzyme activities[J]. Plant Science, 2004, 167(4): 879-888.
- [15] 罗银玲, 宋松泉, 何惠英, 等. 玉米胚发育过程中脱水耐性的变化[J]. 云南植物研究, 2005, 27(3): 301-309.
- [16] 李文君. 桂花种子脱水耐性和休眠机理研究[M]. 南京: 南京林业大学, 2008: 43-44.
- [17] Finch-Savage W E, Blake P S, Clay H A. Desiccation stress in recalcitrant *Quercus robur* L. seeds results in lipid peroxidation and increased synthesis of jasmonates and abscisic acid[J]. J Exp Bot, 1996, 47: 661-667.
- [18] Kalpana R, Madhava Rao K V. Absence of the role of lipid peroxidation during accelerated ageing of seeds of pigeonpea *Cajanus cajan* (L.) Millsp[J]. Seed Sci Tech, 1994, 22: 253-260.
- [19] 宗梅, 蔡丽琼, 吕素芳, 等. 不同脱水方法对板栗胚轴脱水敏感性和生理生化的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33(2): 233-238.
- [20] 颜世超, 高荣岐, 尹燕秤. 银杏含水量变化与活性氧清除酶活性的关系[J]. 中国农学通报, 2005, 21(3): 207-210.
- [21] 宗梅. 玩拗性板栗种子脱水耐性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2005: 58-61.

## Dynamics of Physiology and Biochemical Characteristics of *Allium mongolicum* Regel Seed During Development

YANG Zhong-ren, ZHANG Feng-lan, HAO Li-zhen, MIAO Chun-le, LIU Jian-wen, ZHAO Qing-yan

(Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Inner Mongolia Key Laboratory of Germplasm and Germplasm Enhancement of Wild and Special Vegetable, Hohhot, Inner Mongolia 010019)

**Abstract:** Taking *Allium mongolicum* seed during the development 10 days to 40 days as materials, the dynamics of morphology and physiology and biochemical characteristics of them were studied, to provide the proof for harvest, and to find out its appropriate harvest period. The results showed that: the content of water of seeds and fruits, 1 000-grains weight of seeds declined with the increase of time during development. The color of seed capsule changed from taupe to black in 35~40 days during development. The seed could germination after 25 days during development, and the germination rate were about 16.67%~26.67%. The content of protein, starch, sugar, fat and the activity of LOX increased, and the activity of SOD and CAT decreased at first then increased, but the activity of POD and the content of MDA increased at first then decreased. The physiology and biochemical changed little in 35~40 days during development. So the seeds of *Allium mongolicum* could be harvested in 35~40 days of development.

**Key words:** the seeds of *Allium mongolicum*; development; physiology and biochemical characteristics; harvest time