

北细辛种子萌发过程中蛋白质、多糖及酶活性的变化

马 琳, 王志清, 王秋霞, 徐成路, 张亚玉

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘要:以北细辛种子为材料,通过测定种子不同萌发时期可溶性蛋白质、可溶性糖含量、超氧化物歧化酶(SOD)及过氧化物酶(POD)活性的变化情况,研究了北细辛种子在不同温度处理下,种子发育过程中物质的积累模式及相关酶活性的变化,以了解温度对种子组分的调节机理。结果表明:温度对种子萌发进程起到重要的影响。北细辛种子萌发过程中可溶性糖含量从第3周起迅速升高,之后缓慢下降;可溶性蛋白质含量总体呈上升趋势;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性整体都表现出上升趋势。

关键词:北细辛种子; 温度; 代谢物质

中图分类号:S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2016)24—0149—03

北细辛(*Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.)属马兜铃科细辛属药用植物,为北方道地药材之一。北细辛根部入药,味辛性温,归肾肺二经,具有散风祛寒、止痛镇咳等功效,是《中华人民共和国药典》(2010年版)收载的正品之一^[1]。中医用于治疗风寒头痛、痰饮咳喘、牙痛、鼻塞及关节疼痛等症^[2-3],是临床医学常用中草药。北细辛的繁殖方式为种子繁殖^[4],种子是植物生活史中的重要阶段,对植物繁衍起着至关重要的作用^[5]。所以对种子萌发特性研究是保证种子活力、提高种子繁殖能力的重要保障。

该研究通过对北细辛种子萌发特性的试验及萌发过程中种子的蛋白质、可溶性糖含量及酶活性变化等生理生化指标的测定,对北细辛种子的萌发机制进行初步探讨,以期为其栽培、保护、繁殖等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试北细辛种子采自中国农业科学院特产研究所国家资源圃,6月末采收成熟的北细辛果实,果皮变软后搓出种子,洗净后置于阴凉处晾干,室温条件下砂藏,种子经过后熟后随机选取饱满种子3 000粒清洗干净后,

第一作者简介:马琳(1985-),女,硕士,助理研究员,现主要从事药用植物资源与育种等研究工作。E-mail:malin_a24@126.com。

责任作者:张亚玉(1968-),女,博士,研究员,现主要从事土壤肥料等研究工作。E-mail:zyy1966999@sina.com。

基金项目:吉林省科技发展计划资助项目(20130206019);国家自然科学基金资助项目(81403052)。

收稿日期:2016—09—08

用0.5%高锰酸钾消毒30 min,蒸馏水冲洗干净,用蒸馏水在室温浸泡12 h。

1.2 试验方法

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10、15、20、25、30℃恒温光照培养箱中培养6周。培养期间,每天观察,定期取样,保持滤纸湿润。

1.3 项目测定

在种子萌发的不同时期对不同条件培养下的北细辛种子进行各指标的测定,随机抽取,3次重复。可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝G-250染色法^[6],可溶性多糖含量测定采用蒽酮比色法^[6],过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[7],超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑法^[7]。

2 结果与分析

2.1 温度对北细辛种子发芽率的影响

不同温度培养的北细辛种子发芽率差异较大,在培养的6周内,10、25、30℃始终未发芽,在15℃和20℃条件下培养的种子,均在培养第3周后开始萌发,发芽率分别是84.12%与87.17%。由此可见温度是影响北细辛种子发芽率的主要因素。

2.2 北细辛种子萌发过程中可溶性蛋白质含量的变化

由图1不同温度处理对北细辛种子的可溶性蛋白质含量影响可以看出,不同温度条件培养的北细辛种子在种子萌发前蛋白质的含量下降。在20℃培养第3周种子开始萌发,可溶性蛋白质含量有所上升,随后下降。15℃条件下种子萌发,可溶性蛋白质含量始终下降。这是因为种子在萌发过程中,种子内的贮藏蛋白在蛋白酶

的作用下分解为氨基酸,用于某些组织中新蛋白质的形成。25、30 ℃培养条件下,北细辛种子可溶性蛋白质含量降低。10 ℃条件下,在培养第5周时,可溶性蛋白质含量急剧下降。说明在种子萌发过程中储藏蛋白为胚生长提供所需的营养物质,并用于生长所需的新蛋白质的合成。

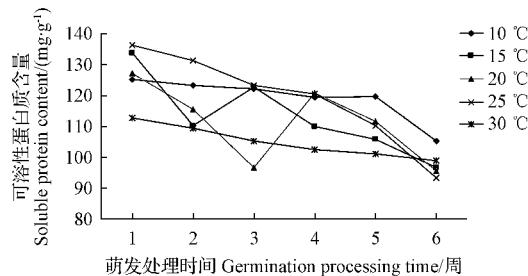


图1 种子萌发过程可溶性蛋白质含量变化

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

2.3 北细辛种子萌发过程中可溶性糖含量的变化

可溶性糖含量在一定程度上反映了植物体内有机物质代谢及碳水化合物的转化情况。从图2可以看出,北细辛种子在露白前可溶性糖含量基本处于稳定状态,种子露白后其可溶性糖的含量上升到最大值。15 ℃培养条件下种子露白后第1周,可溶性糖含量达最大值为 $5.45 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,20 ℃时,其含量达到最大值 $5.67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。说明在种子萌发过程中淀粉在水解酶作用下转化成可溶性糖,为种子顺利萌发和生长提供能量,之后呈下降趋势,可能与部分可溶性糖转化为其它物质满足种子的萌发及幼苗的形态建成有关。

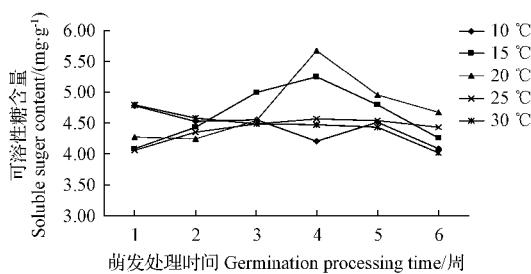


图2 种子萌发过程中可溶性糖含量动态变化

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

2.4 北细辛种子萌发过程中SOD活性的变化

由图3可以看出,15 ℃处理SOD活性最高为 $839.20 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,30 ℃处理SOD活性最低。不同温度处理对北细辛种子SOD活性有显著影响,温度过低(10 ℃)会使SOD活性降低,适度的低温(15 ℃)促进了SOD活性的升高。表明适度低温对SOD活性升高有诱导作用。SOD活性在种子萌发前不断上升,在种子露白时,SOD活性达到最大值,此后随着胚芽的生长

SOD活性逐渐降低。温度过高(30 ℃)使SOD活性失去动态平衡,导致活性氧的累积,造成氧化伤害,影响种子的萌发及发育。

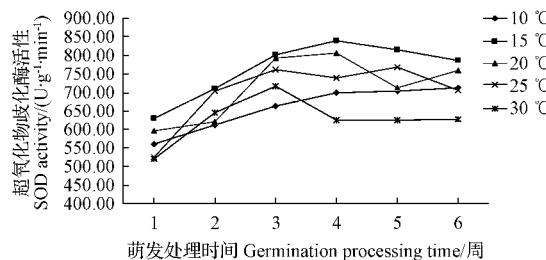


图3 种子萌发过程中的SOD活性动态变化

Fig. 3 Dynamic change of SOD activity in the bud of radish

2.5 北细辛种子萌发过程中POD活性的变化

从图4可以看出,不同处理温度POD活性的差异较大,并随着处理时间的延长,POD活性表现为起伏的变化。在每个处理温度下,POD活性出现1个最大值,并且处理温度不同,POD最大活性值的大小及出现的时间也不同。在10 ℃下培养3周时出现最大活性值 $43.70 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;而15、20 ℃条件下,在种子萌发后2周时分别出现最大活性值 52.64 、 $44.77 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;30 ℃条件下则是在第2周出现最大值。POD是植物细胞的保护性酶,植物体内POD活性的变化能够准确的反映种子在萌发期间,植物体内受到温度胁迫后POD起到防御作用的强弱。

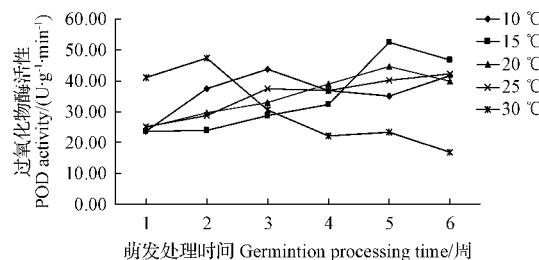


图4 种子萌发过程中POD活性动态变化

Fig. 4 Dynamic change of POD activity in the bud of radish

3 讨论

温度影响种子的萌发,适宜温度可以使种子萌发的既快又好。温度过低或不足,会直接影响种子萌发的生命过程,导致物质转化受阻、酶活性改变等,最终表现为萌发缓慢或不发芽^[8]。温度过高,会使呼吸消耗过多物质,有毒物质积累,导致种子不发芽甚至死亡^[9]。试验结果表明,30、25、10 ℃条件下培养6周的北细辛种子未萌发。在15、20 ℃条件下,培养3周后,种子开始萌发,体现了温度对萌发进程的重要影响。

种子中贮藏物质的转化利用为萌发过程提供所需要的的能量和养分^[10]。蛋白质、糖类物质为种子发芽提供

氮源、碳源和能量,同时维持着细胞之间的渗透平衡^[11]。种子萌发主要是从异氧到自氧的过程,储藏物质在种子萌发中首先水解成简单的营养物质,运转到生长部位,作为构成新组织的成分及能量的原料,为种子发芽提供必要条件^[12]。结果显示,在种子萌发之前蛋白质与可溶性糖含量在种子露白前均降低,当种子萌发后,新组织生成,蛋白质及糖等物质又有所升高。

在种子生长发育过程中,酶的活性发生动态变化^[13]。种子体内的保护酶活性随发育而不断变化,来维持活性氧代谢及正常的生长发育^[14]。试验表明,高温胁迫降低了植物体内保护酶活性,导致植物体内活性氧的大量累积,加速膜脂的过氧化,从而对种子产生伤害,因耐性不同伤害程度存在不同差异^[15~16]。北细辛种子萌发过程中,几种酶活性的变化为:SOD活性随萌发的进行而增加,种子开始萌发阶段酶活性变化不大,当种子露白时酶活性最大,随后活性逐渐下降;POD活性呈现起伏趋势。当种子萌发时酶活性缓慢增加,而在胚生长中期活性降低。

综上所述,种子萌发代谢过程是复杂的,了解种子发芽过程中的生理生化变化规律,能够指导种子适时播种,为种子的萌发提供良好的环境。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010; 214.
- [2] 熊玉兰, 荆宇, 尚明英, 等. 细辛非挥发性提取物抗炎镇痛作用研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(17): 2252.
- [3] 黄顺旺. 细辛的药理毒理和临床应用[J]. 安徽医药, 2003, 7(6): 477.
- [4] 王志清, 刘继永, 李昌禹, 等. 利用 ISSR 和 SRAP 标记分析细辛资源遗传多样性与亲缘关系[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 5(16): 1074~1082.
- [5] 徐亮, 包维楷, 何永华. 种子贮藏物质变化及其贮藏生理[J]. 种子, 2003(5): 60~62.
- [6] 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.
- [7] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [8] 宋兆伟, 郝丽珍, 黄振英, 等. 光照和温度对沙芥和斧翅沙芥植物种子萌发的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(10): 2562~2568.
- [9] 王海宁, 张建利, 冯林, 等. 温度和干旱胁迫对 3 种牧草种子萌发的影响[J]. 草业科学, 2009, 8(26): 87~91.
- [10] 刘军, 黄上志, 傅家瑞. 种子活力与蛋白质关系的研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(1): 46~51.
- [11] 黄荟, 姜孝成, 程红焱, 等. 种子蛋白质组的研究进展[J]. 植物学通报, 2008, 25(5): 597~607.
- [12] 程昕晰, 周毅, 刘正. 甜玉米种子萌发过程中糖类物质转化动态变化分析[J]. 种子, 2013, 3(32): 10~13.
- [13] ALMESELMANI M, DESHMUKH P S, SAIRAM R K, et al. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress[J]. Plant Science, 2006, 171: 382~388.
- [14] 邓莊明, 熊格生, 袁小玲. 棉花不同耐高温品系的 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量差异及其对盛花期高温胁迫的响应[J]. 棉花学报, 2010, 22(3): 242~247.
- [15] 张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 等. 高温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响[J]. 作物学报, 2006, 32(9): 1306~1310.
- [16] LU P, SANG W G, MA K P. Differential responses of the activities of antioxidant enzymes to thermal stresses between two invasive *Eupatorium* species in China[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50(4): 393~401.

Dynamic Changes of Proteins and Polysaccharides and Activities of Enzymes in *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. During Germination

MA Lin, WANG Zhiqing, WANG Qiuxia, XU Chenglu, ZHANG Yaya

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, CAAS, Changchun, Jilin 130112)

Abstract: *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. seeds were used as materials, the soluble protein content and the soluble sugar content in the bud of radish was determined, the activities of SOD, POD in the different seed germination periods was measured, the changes of the component in physiological indexes of the seed germination was discussed, so as to understand the modulation mechanism of temperature on seed germination. The results showed that, the change of the temperature had an important influence on the seed germination periods. With the seed germination, the content of soluble sugar from the third week increased quickly, and then decreased; soluble protein overall showed an increasing tendency as a whole; the activities of SOD, POD increased gradually.

Keywords: *Asarum heterotropoides* seeds; temperature; metabolic substance