

光照对沙芥种子萌发中生理生化指标的影响

张凤兰, 杨忠仁, 郝丽珍*

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, 呼和浩特010019

摘要: 以沙芥种子为实验材料, 以24 h黑暗处理为对照, 研究了光照对其萌发过程中主要贮藏物质、内源激素和酚酸类物质含量的影响。结果表明: 光照处理的沙芥种子的萌发指标均明显低于黑暗处理, 且萌发过程中脂肪和淀粉的降解、淀粉酶活性、可溶性糖的增加也显著低于黑暗处理; 在萌发的前2 d, 光照处理的种子ABA、酚酸类物质总量、没食子酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、香豆酸和肉桂酸含量均高于黑暗处理。

关键词: 光照; 沙芥; 种子; 萌发; 生理生化指标

Effect of Light on Physiological and Biochemical Indexes of *Pugionium cornutum* (L.) Gaertn Seeds in Germination

ZHANG Feng-Lan, YANG Zhong-Ren, HAO Li-Zhen*

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

Abstract: The effect of light on the contents of main store substances, endogenous hormones, phenolic acids of *Pugionium cornutum* seeds in germination were studied. The results indicated that the germination indexes of seed in light were significantly lower than those in dark. And the degradation of fat and starch, the augment of the amylase and soluble sugar of seed in light were also significantly lower than those in dark in germination. But the contents of ABA, gallic acid, hydroxybenzoic acid, caffeic acid, coumaric acid, cinnamic acid and the total content of phenolic acids in light were on the contrary at the first two days of germination.

Key words: light; *Pugionium cornutum*; seed; germination; physiological and biochemical indexes

沙芥为十字花科沙芥属二年生草本植物, 是中国的特有种, 主要分布于我国的科尔沁、浑善达克、库布齐(东部)、毛乌素、宁夏沙地, 生长于流动半流动沙丘上(赵一之1999)。由于其具有很高的营养、保健价值及无污染等特点而倍受沙区百姓的欢迎(张凤兰等2006); 同时其根系发达, 极耐沙埋, 幼苗和成株期植株, 均具有很强的抗旱性, 是防止沙丘前移和治理沙漠化的“先锋植物”。对其萌发特性的研究是了解和开发利用该种植物的基础, 但影响种子萌发的因素很多, 其中光照是影响种子萌发极其重要的因子(Gutterman 1993; Khan和Ungar 1997), 尤其是沙生植物受光调节萌发的现象非常普遍, 如生长在以色列Negev沙漠的蒿属植物*Artimisia monosperma* (Koller 1956)和生长于毛乌素沙地的籽蒿(Huang和Gutterman 2000; Huang等2001), 光照对其种子萌发均具促进作用, 但张卫华等(2005)研究发现沙芥种子萌发具有嫌光性, 宋兆伟等(2010)也发现光照能抑制沙芥种子萌发。目前, 光对沙生植物种子萌发的调控作用

研究主要集中在萌发特性方面(薛焱和王迎春2007; Huang等2001), 而对其生理生化物质影响方面的研究极少。因此本文以24 h黑暗为对照, 研究25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下沙芥种子的萌发过程中主要贮藏物质含量、内源激素和酚酸类物质的变化, 探讨光抑制其萌发的生理生化机制及其萌发特性的生态适应性, 为沙芥种子光抑制萌发机理的研究奠定基础。

材料与方法

沙芥[*Pugionium cornutum* (L.) Gaertn]种子于2008年10月采自毛乌素沙地, 千粒重为(19.64±2.0) g。

将浸种6 h的沙芥种子放于铺有2层湿润吸水

收稿 2011-01-03 修定 2011-05-04

资助 国家自然科学基金(30260067、30860174和30460080)、内蒙古自然科学基金(20080404MS0305和200308020513)和内蒙攻关项目(20050305和20060202)。

* 通讯作者(E-mail: haolizhen_1960@163.com; Tel: 0471-4318467)。

纸的培养皿中,每皿30粒,4次重复。分别置于光照(24 h光照,光照强度为 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)和黑暗条件下进行萌发实验,萌发温度为 27°C 。每天测定种子发芽率、发芽指数和活力指数。发芽率(%)=供试种子的发芽数/供试种子数 $\times 100\%$ 。发芽指数(G_t)= $\sum G_t/D_t$;其中, G_t 为在 t 时间的发芽数, D_t 为发芽天数。活力指数(V_t)=发芽指数 \times 胚根长。同时测定淀粉酶活性、淀粉含量、可溶性糖含量(蒽酮比色法)、可溶性蛋白质含量(考马斯亮兰G-250染色法)、脂肪含量(残余法)(李合生2000;张志良1990),催芽第8天结束实验。在催芽前4 d内,每天取样用高效液相色谱外标法测定酚酸及吲哚丙酸(indolepropionic acid, IPA)、赤霉素(gibberellin, GA_3)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)等内源激素含量(上海市植物生理学会1999)。

酚酸含量测定的进样量 $0.5 \mu\text{L}$,色谱条件: μ -Bonkapak Phenyl柱,流动相35% CH_3OH -6% H_2O (pH 4.5),流速 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测器UV 254 nm $\times 0.1$ AUFS,依保留时间定性,以峰面积定量,含量以 $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (FW)计。

内源激素含量测定,色谱条件:Novapark C_{18} 柱,流动相15% CH_3CN - CH_3OH -60% H_2O (pH 3.5),流速 $0.7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测器UV 254 nm $\times 0.1$ AUFS,依保留时间定性,以峰面积定量,含量以 $\mu\text{g}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (FW)计。

所有试验数据均在DPS 9.5平台上进行ANOVA和相关性统计分析(唐启义和冯明光2002),并采用Excel软件制图。

实验结果

1 光照对沙芥种子萌发过程中发芽指标的影响

由表1可知,萌发第3天,光照处理的沙芥种子发芽率为0,黑暗处理则高达76%。光照处理的发芽指数在萌发4~8 d呈上升趋势,而黑暗处理的发芽指数在萌发第3天达最大值,之后稳定不变;且光照处理始终低于黑暗处理。光照和黑暗处理的活力指数均随发芽时间的增加呈上升趋势,且萌发第8天黑暗处理的活力指数是光照的49倍。

2 光照对沙芥种子萌发过程中主要贮藏物质含量及淀粉酶活性的影响

由图1可知,沙芥种子萌发过程中,光照和黑暗处理的蛋白质和可溶性糖含量在萌发初期少量积累,到第3天后随萌发的大量开始及胚根等器官的生长,蛋白质和可溶性糖消耗增加,出现下降趋势;光照和黑暗处理的淀粉和脂肪的含量均下降,黑暗处理的下降幅度较大。

由图2可知,光照处理的 α -淀粉酶活性峰值出现在萌发第5天,黑暗处理出现在萌发第2天;光照处理的淀粉酶活性在种子萌发过程中增加的速度低于黑暗处理。

3 光照对沙芥种子萌发过程中内源激素含量的影响

由表2可知,光照和黑暗处理种子的内源激素总量均低于未催芽种子,但 GA_3 /ABA的比值却高于未催芽种子的。萌发第1天,光照处理的IPA、 GA_3 、IAA、ABA含量均高于黑暗处理,而 GA_3 /ABA的比值低于黑暗处理;萌发第2天,光照处理的IPA、 GA_3 、IAA含量和 GA_3 /ABA均低于黑暗处

表1 光照对沙芥种子萌发特性的影响

Table 1 Effect of light on germination characteristic of *P. cornutum* seed in germination

萌发时间/d	发芽率/%		发芽指数		活力指数	
	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗
1	0 ^c	0 ^c	0 ^d	0 ^c	0 ^c	0 ^e
2	0 ^c	30 \pm 3.33 ^b	0 ^d	4.50 \pm 0.50 ^b	0 ^c	0.42 \pm 0.05 ^f
3	0 ^c	76 \pm 1.92 ^a	0 ^d	9.06 \pm 0.10 ^a	0 ^c	1.85 \pm 0.02 ^e
4	6 \pm 1.92 ^d	76 \pm 1.92 ^a	0.42 \pm 0.14 ^c	9.06 \pm 0.10 ^a	0.04 \pm 0.01 ^c	5.24 \pm 0.06 ^d
5	6 \pm 1.92 ^d	77 \pm 3.33 ^a	0.42 \pm 0.14 ^c	9.06 \pm 0.10 ^a	0.04 \pm 0.01 ^c	9.56 \pm 0.10 ^c
6	19 \pm 1.92 ^c	77 \pm 3.33 ^a	1.09 \pm 0.14 ^b	9.06 \pm 0.10 ^a	0.10 \pm 0.01 ^{bc}	15.04 \pm 0.16 ^b
7	30 \pm 3.33 ^b	77 \pm 3.33 ^a	1.53 \pm 0.25 ^a	9.06 \pm 0.10 ^a	0.23 \pm 0.04 ^{ab}	15.14 \pm 0.16 ^{ab}
8	34 \pm 3.85 ^a	77 \pm 3.33 ^a	1.72 \pm 0.30 ^a	9.06 \pm 0.10 ^a	0.31 \pm 0.05 ^a	15.21 \pm 0.16 ^a

不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

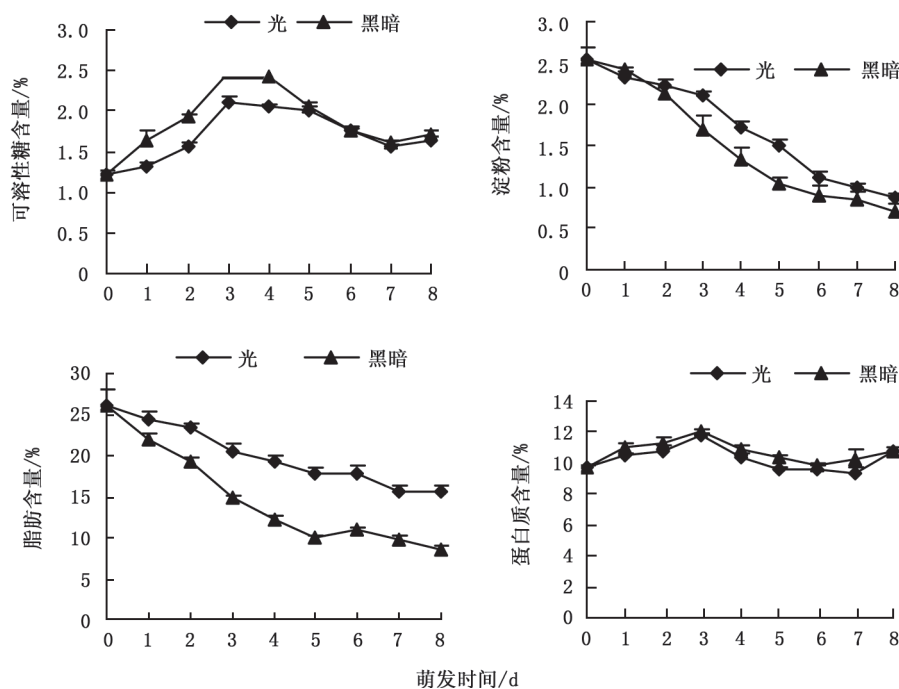


图1 光照对沙芥种子萌发过程中贮藏物质含量的影响

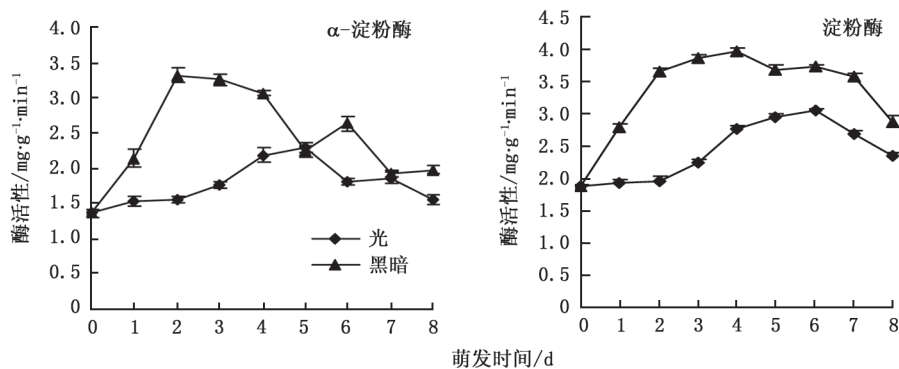
Fig.1 Effect of light on storage substance contents of *P. cornutum* seed in germination图2 光照对沙芥种子萌发过程中 α -淀粉酶和淀粉酶活性的影响Fig.2 Effect of light on α -amylase and amylase activities of *P. cornutum* seed in germination

表2 光照对沙芥种子萌发过程中内源激素含量的影响

Table 2 Effect of light on endogenous hormones contents of *P. cornutum* seed in germination

萌发时间/d	$\mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}\text{(FW)}$											
	IPA含量		GA ₃ 含量		IAA含量		ABA含量		GA ₃ /ABA		总和	
	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照
0	123.2	123.2	79.0	79.0	46.4	46.4	161.6	161.6	0.8	0.8	410.2	410.2
1	70.5	87.6	66.1	88.9	30.5	104.4	25.6	57.2	2.6	1.6	192.7	338.1
2	115.7	70.1	161.2	45.1	78.3	18.1	38.0	49.1	4.2	0.9	393.2	182.4
3	120.2	110.2	124.4	118.4	42.0	71.0	53.4	42.1	2.3	2.8	340.0	341.7
4	48.1	30.0	140.5	196.0	86.2	71.8	29.6	18.7	4.7	10.5	304.4	316.5

理, 而ABA含量高于黑暗处理; 萌发第3天和第4天, 光照处理的IPA、GA₃和ABA均低于黑暗处理, 而GA₃/ABA则高于黑暗处理。

4 光照对沙芥种子萌发过程中酚酸物质含量的影响

由表3可知, 在所测得的酚酸类物质中没食子酸的含量最高, 占总量的80%以上, 其变化与总酚酸含量相同; 香豆素在催芽1~4 d内变化不大; 肉桂酸只有在萌发前2 d内能够测得, 但其含量较低; 光照处理的种子中总酚酸含量、没食子酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、香豆酸和肉桂酸含量均高于黑暗处理。

讨 论

1 光照对沙芥种子萌发特性及生理机制的影响

本文结果进一步验证了宋兆伟等(2010)和张卫华等(2005)关于光照抑制沙芥种子萌发的报道, 但对萌发的抑制程度有所不同。张卫华等(2005)在沙芥种子休眠期研究发现, 27 °C、24 h光照处理的种子发芽率为1.67%, 是黑暗处理的3.45%, 本研究在沙芥种子解除休眠后进行, 光照处理的发芽率高达37%, 是黑暗对照的47.62%, 这说明光照对休眠期和非休眠期的种子萌发均具有抑制作用,

表3 光照对沙芥种子萌发过程中酚酸类物质含量的影响

Table 3 Effect of light on phenolic acids contents of *P. cornutum* seed in germination

萌发时间/d	mg·100 g ⁻¹ (FW)									
	没食子酸含量		儿茶酸含量		邻苯二酚含量		对羟基苯甲酸含量		咖啡酸含量	
	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照
0	109.13	109.13	11.91	11.91	0.98	0.98	15.01	15.01	25.23	25.23
1	121.32	134.78	4.87	3.31	1.72	3.96	3.74	4.09	14.37	17.06
2	116.46	124.92	2.92	4.92	2.6	1.74	3.16	4.44	12.51	15.78
3	115.85	127.40	4.24	5.65	1.80	2.21	3.53	22.21	13.01	14.66
4	111.82	116.46	4.19	2.92	3.51	2.60	3.24	3.16	13.14	12.51

萌发时间/d	香豆酸含量		阿魏酸含量		苯甲酸含量		肉桂酸含量		香豆素含量		总含量	
	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照	黑暗	光照
	0	3.11	3.11	1.50	1.50	2.11	2.11	0.08	0.08	0.47	0.47	169.53
1	-	-	0.27	-	4.28	2.94	0.31	1.24	1.24	1.01	152.11	168.39
2	0.61	1.20	0.72	0.13	-	1.41	-	0.37	1.31	1.00	140.61	155.91
3	1.90	-	0.25	3.47	1.36	1.64	-	-	1.31	1.13	143.25	176.50
4	0.91	4.15	0.90	-	-	2.66	-	-	1.24	1.03	138.95	145.49

“-”表示未检出。

且对休眠期种子萌发的抑制作用更强, 课题组在研究同为沙生蔬菜的沙葱时, 也发现了沙葱种子萌发具有嫌光性(杨忠仁等2007)。因此在人工栽培沙芥和沙葱时, 选用通过休眠期的饱满种子, 在催芽过程需遮光, 这将有利于种子萌发。

本文还发现在沙芥种子萌发过程中, 光照处理的GA₃/ABA的比值在萌发前2 d都低于黑暗处理, 但在萌发第3天, GA₃/ABA比值急剧升高, 淀粉酶活性也开始显著增加, 发芽率也开始升高。同时GA₃/ABA的比值与活力指数、 α -淀粉酶、淀粉酶、GA₃呈显著的正相关, 而与淀粉、脂肪呈显著的负相关(表4), 表明在萌发前2 d内, 光照对种子萌发抑制最严重, 是通过GA₃或GA₃/ABA来调节淀粉酶活性,

进而影响淀粉、脂肪的降解和可溶性糖含量的增加。沙芥种子的活力指数升高与 α -淀粉酶、淀粉酶、GA₃含量与GA₃/ABA的增加呈显著正相关, 而与淀粉和脂肪的降解呈负相关, 这与江玲等(2005)、周述波等(2005)、虞慧芳等(2006)、顾振新等(2003)的结果基本一致, 只是与杨忠仁等(2007)关于沙葱种子萌发中淀粉和蛋白质的变化略有不同, 这可能由种子间的大小、各贮藏物质组分和代谢机制不同造成的。而关于本研究中发现的咖啡酸的变化和可溶性糖、 α -淀粉酶、淀粉酶和GA₃/ABA比值呈负相关, 而与淀粉、脂肪和ABA呈正相关, 且与ABA的相关性极显著, 咖啡酸的作用机制与ABA的是否相同, 将有待于进一步研究。

表4 光照和黑暗处理下各主要指标间的相关性分析

Table 4 The correlation of the main indexes in light and in dark

	活力指数	可溶性糖	淀粉	脂肪	α -淀粉酶	淀粉酶	GA ₃	ABA	GA ₃ /ABA	没食子酸	咖啡酸
活力指数	1	0.7518	-0.9319	-0.8596	0.4921	0.667	0.4891	-0.3816	0.6266	-0.3332	-0.4035
可溶性糖	0.5420	1	-0.9339	-0.9809	0.8858	0.9581	0.6706	-0.6788	0.6552	0.1306	-0.8012
淀粉	-0.8489	-0.8474	1	0.9786	-0.7455	-0.8676	-0.6597	0.5221	-0.673	0.1625	0.6172
脂肪	-0.6833	-0.9731	0.9435	1	-0.8362	-0.9393	-0.6689	0.6679	-0.7221	-0.0377	0.7600
α -淀粉酶	0.8914	0.8441	-0.9853	-0.9363	1	0.9705	0.8569	-0.7454	0.7699	0.2842	-0.8934
淀粉酶	0.9165	0.8259	-0.9547	-0.9092	0.99	1	0.7967	-0.7824	0.8066	0.2340	-0.8984
GA ₃	0.8882	0.6856	-0.8207	-0.7763	0.9043	0.9396	1	-0.4149	0.7526	-0.1370	-0.5904
ABA	-0.474	-0.7343	0.8369	0.8204	-0.7524	-0.6534	-0.4711	1	-0.7938	-0.7093	0.9608
GA ₃ /ABA	0.9808	0.6693	-0.9070	-0.7924	0.9529	0.9716	0.9485	-0.5639	1	0.2088	-0.7920
没食子酸	-0.3415	0.0819	-0.0561	-0.1141	-0.0409	-0.1662	-0.2113	-0.5701	-0.2407	1	-0.6262
咖啡酸	-0.5210	-0.7938	0.8769	0.8709	-0.8007	-0.7109	-0.5244	0.9951	-0.6136	-0.4985	1

横排为黑暗处理,竖列为光照处理。

2 光照抑制沙芥种子萌发的生态适应性

沙芥主要分布在干旱荒漠区,该区降水稀少,蒸发量大,并伴随有土壤盐碱化,植物在这种极端严酷条件下,有其特殊的生活史对策和适应机制(彦启传2001)。影响荒漠植物种子萌发的环境因子很多,包括水分、温度、光照、氧气、化学物质、土壤因子、生物因素等方面(张知彬和王福生2001)。在自然环境中,光照通过影响种子的萌发率和萌发速率进而影响到幼苗的形成和生长,最终影响到物种的适应度(路宁娜等2008)。本文结果表明,光照处理使沙芥种子发芽率显著降低,始发天数延后,胚根和下胚轴的伸长生长延缓。这是沙芥在适应沙漠环境时的一种自我保护措施,如果光照对沙芥种子萌发无抑制作用,则散落在沙子表面上的种子在温度适宜条件下遇到充足的水分时便开始萌发,由于沙地的水分蒸腾非常迅速,待沙芥根长出后,沙子表层的水分早已被蒸干,且表层温度增高,在高温、无水的条件下,沙芥苗很难成活,这不利于沙芥种群的繁衍,可见光照条件是影响沙芥种子萌发及调节其生态适应性的重要因子之一。

参考文献

- 顾振新,陈志刚,蒋振晖(2003). 赤霉素处理对糙米发芽力及其主要成分变化的影响. 南京农业大学学报, 26 (1): 74~77
- 江玲,侯名,刘世家,陈亮明,刘喜,翟虎渠,万建民(2005). 水稻种子低温萌发生理机制的初步研究. 中国农业科学, 38 (3): 480~485
- 李合生(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 185~186
- 路宁娜,崔现亮,王桔红,赵彬红,徐秀丽,刘坤(2008). 不同贮藏条件和光照对5种藜科植物种子萌发的影响. 中国沙漠, 28 (6): 1130~1135

- 上海市植物生理学会编(1999). 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 184~185
- 宋兆伟,郝丽珍,黄振英,李娜,赵清岩(2010). 光照和温度对沙芥和斧翅沙芥植物种子萌发的影响. 生态学报, 30 (10): 2562~2568
- 唐启义,冯明光(2002). 实用统计分析及其DPS数据处理系统. 北京: 科学出版社, 43
- 薛焱,王迎春(2007). 光照、温度和盐分对长叶红沙种子萌发的影响. 植物生理学通讯, 43 (4): 708~710
- 颜启传(2001). 种子学. 北京: 中国农业出版社, 559
- 杨忠仁,郝丽珍,张凤兰,王萍,刘杰才,李晓静,张进文,胡宁宝,赵清岩,王六英(2007). 沙葱种子的萌发特性和几种贮藏物质含量的变化. 植物生理学通讯, 43 (1): 173~175
- 虞慧芳,曹家树,武涛(2006). 无蔓南瓜对外源GA₃处理的生理反应. 园艺学报, 33 (6): 1331~1334
- 张凤兰,郝丽珍,王萍,杨忠仁,张进文,胡宁宝,赵清岩(2006). 蒙古高原沙芥属野菜的种类资源考察及利用现状. 中国蔬菜, 10: 31~34
- 张卫华,郝丽珍,王彦华,张凤兰,王萍,赵清岩,刘杰才(2005). 沙芥种子吸水规律和发芽过程中几种贮藏物质的含量变化. 植物生理学通讯, 41 (4): 528~530
- 张知彬,王福生(2001). 鼠类对山杏种子存活和萌发的影响. 生态学报, 21 (11): 1762~1768
- 张志良(1990). 植物生理学实验指导. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1~3
- 赵一之(1999). 沙芥属的分类校正及其区系分析. 内蒙古大学学报(自然科学版), 30 (2): 197~199
- 周述波,林伟,萧浪涛,李再军,童建华(2005). 外源GA和ABA对杂交水稻种子萌发的影响. 湖南农业大学学报(自然科学版), 31 (3): 269~271
- Gutterman Y (1993). Seed germination in desertplants. Berlin: Springer-Verlag, 20~21
- Huang ZY, Gutterman Y (2000). Comparison of germination strategies of *Artemisia* or *dosica* with its two congeners from deserts of China and Israe. *Acta Bot Sin*, 42 (1): 71~80
- Huang ZY, Gutterman Y, Hu ZH (2001). Seed germination in *Artemisia sphaerocephala* II. The influence of environmental factors. *Acta Phytoc Sin*, 25 (2): 240~246
- Khan MA, Ungar IA (1997). Effects of light, salinity, and thermo period on the seed germination of halophytes. *Can J Bot*, 75: 835~841
- Koller D (1956). Germination-regulating mechanisms in desert seeds III. *Calligonum comosum* L'her. *Ecology*, 37: 430~433