

## 不同温度处理对乳苣种子萌发生理生化的影响

卢旭东<sup>1,2</sup>, 张凤兰<sup>1\*</sup>, 杨忠仁<sup>1</sup>, 刘金泉<sup>1</sup>, 郝丽珍<sup>1</sup>, 伊风艳<sup>2</sup>

(1. 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 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;

2. 内蒙古自治区农牧业科学院, 呼和浩特 010031)

**摘要:** 为了解温度对乳苣种子萌发以及种子萌发过程中贮藏物质和各种酶的变化情况, 开展了不同温度对乳苣种子萌发以及贮藏物质变化规律的研究。结果表明: 变温能够有效提高乳苣种子的发芽率, 最适变温为 15/30 °C, 发芽率可达 54.45%; 乳苣种子萌发过程中, 种子内含物质利用在时间上存在差异, 碳水化合物动员较快, 脂肪、蛋白质水解相对较慢。乳苣种子萌发过程中, 其碳水化合物的代谢主要归因于  $\alpha$ -淀粉酶的水解, 且  $\alpha$ -淀粉酶的活性与种子萌发率呈正相关; 乳苣种子萌发过程中, TCA 及 PPP 同时存在, PPP 对乳苣种子萌发起主导地位。

**关键词:** 乳苣; 萌发; 贮藏物质; 酶活性

中图分类号: S647

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)06-0913-07

### Effects of different temperature treatments on physiological and biochemical characteristics of *Lactuca tatarica* during seed germination

LU Xudong<sup>1,2</sup>, ZHANG Fenlang<sup>1</sup>, YANG Zhongren<sup>1</sup>, LIU Jinquan<sup>1</sup>, HAO Lizhen<sup>1</sup>, YI Fengyan<sup>2</sup>

(1. Inner Mongolia Key Laboratory of Wild Peculiar Vegetable Germplasm Resources and Germplasm Enhancement, College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019; 2. Inner Mongolia Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031)

**Abstract:** The paper studied the changes of seed germination and storage material at different temperature to understand the changes of storage material and various enzymes during the germination of *Lactuca tatarica* seeds. The results showed that: variable temperature could increase the germination rate of seeds. When the optimum variable temperature was 15 °C or 30 °C, the highest germination rate of the seeds could reach to 54.45%; during the seed germination, the nutrients were gradually hydrolyzed under the action of related enzymes, which provided nitrogen source, carbon source and energy for the growth of embryo. There were some differences in the degradation process of the substance in the seeds. Among them, carbohydrate mobilization was fast, while the hydrolysis of fat and protein was relatively slow. During the germination of *L. tatarica*, the carbohydrate metabolism mainly attributes to the hydrolysis of  $\alpha$ -amylase, and its enzyme activity is positively correlated with the germination rate of seeds; tricarboxylic acid cycle (TCA) and pentose phosphate pathway (PPP) coexist during seed germination of *L. tatarica*, and PPP plays a dominant role in seed germination of *L. tatarica*.

**Key words:** *Lactuca tatarica*; germination; storage material; enzymatic activity

种子萌发是野生植物生命周期的开始, 是其群落建成与繁衍关键环节之一<sup>[1]</sup>。对于大多数野生植物来说, 温度是影响种子萌发重要环境因子。温度直接影响着种子萌发率、萌发速率和发芽指数<sup>[2]</sup>,

种子必需在最适温度范围内萌发才能完成一系列有序的内部生理反应和外部形态变化<sup>[3]</sup>, 温度过高或过低均会抑制种子内部储藏物质转化<sup>[4]</sup>与相关酶活性。相较于恒温而言, 大多数野生植物萌发需要一

收稿日期: 2021-12-01

基金项目: 内蒙古自治区应用技术研究与开发项目 (2019GC237), 内蒙古自治区科技成果转化专项资金项目 (2021CG0023) 生态草业可持续发展研究专项 (2022CYZX05), 内蒙古农牧业科学院创新基金项目 (2019CXJJN11) 和内蒙古农牧业科学院青年创新基金项目 (2020QNJJN012) 共同资助。

作者简介: 卢旭东, 硕士。E-mail: 593137036@qq.com

\* 通信作者: 张凤兰, 副教授。E-mail: zhangfenglan041105@163.com

定程度的变温才能达到最大的萌发率<sup>[5]</sup>。

乳苣属菊科(Compositae), 莴苣属(Lactuca), 又名蒙山莴苣、苦菜, 多年生草本。主要分布于华北大部、青海、新疆等地<sup>[6-7]</sup>。乳苣是生活在北方大部分地区人民备受青睐的时令野菜, 天然无污染、营养价值高、药食同源, 具有很好的经济与生态前景。然而长期以来乳苣的开发、利用以野生资源为主, 重采收、轻管理, 多年的无序采挖和野生环境的恶化, 导致乳苣分布逐年减少, 大大制约了这一优质野生蔬菜种质资源的可持续开发和利用。为了促进乳苣属植物自然种群的恢复以及人工大规模栽培与利用, 首要解决的就是乳苣种子萌发这一关键性问题。

目前对乳苣的研究集中于遗传多样性<sup>[8-9]</sup>、营养物质<sup>[10-11]</sup>有效成分提取<sup>[12-14]</sup>、化学成分鉴定<sup>[15-17]</sup>及药性<sup>[18-21]</sup>、药理<sup>[22-23]</sup>、人工栽培<sup>[24]</sup>等方面, 对于乳苣种子萌发方面的研究尚鲜见报道。本课题组通过前期预试验了解到, 水分与氧气并不是限制乳苣种子萌发的主要因子, 温度才是其主要限制因子, 直接影响着种子萌发过程中酶促反应的快慢与呼吸代谢的强弱, 最终影响种子发芽率、发芽速率等指标。因此本研究从不同温度处理对乳苣种子萌发过程的影响、贮藏物质及相关代谢酶活性的变化入手, 研究温度对乳苣种子萌发过程中生理生化的变化规律, 以期明确乳苣种子萌发的最佳条件, 为乳苣人工栽培、规模化生产提供理论支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

乳苣种子于 2019 年 6—7 月采集于内蒙古自治区农牧业科学院托克托科研基地(40°51' N, 111°39' E, 海拔 1 001 m), 在室内自然风干, 除去冠毛。

### 1.2 方法

**1.2.1 种子萌发** 种子萌发在人工气候箱中进行, 温度设置为 0、5、10、15、20、25、30 和 35 °C 共 8 个恒温处理和 15/20 °C、15/25 °C、10/25 °C、15/30 °C 和 20/35 °C (低温 12 h/ 高温 12 h) 5 个变温处理。种子萌发试验采用 TP 法, 将种子置于含有双层灭菌滤纸的 9 cm 培养皿中, 每皿 30 粒种子, 3 次重复。乳苣种子露白记为萌发开始。每天记录乳苣种子萌发数, 并于第 10 天结束种子萌发, 计算发芽率和发芽势。

**1.2.2 发芽指标测定** 发芽率(G):  $G = GI / T \times 100\%$ , 其中,  $GI$  为发芽数,  $T$  为试验种子总数。

发芽势(GV):  $GV = G2 / T \times 100\%$ , 其中,  $G2$  为萌发达到高峰时全部发芽的种子数。

发芽指数(GI):  $GI = \sum(Gt / Dt)$ , 其中,  $Gt$  为各日净发芽数,  $Dt$  为相应的发芽天数。

**1.2.3 生理生化指标** 每隔 2 d 测定 15 °C、15/20 °C 和 15/30 °C 3 个处理乳苣种子的各项生理生化指标, 主要包括: 可溶性蛋白含量<sup>[25]</sup> (考马斯亮蓝 G250 染色法)、脂肪含量<sup>[25]</sup> (索氏提取法)、淀粉<sup>[25]</sup>含量和可溶性糖含量<sup>[25]</sup> (蒽酮比色法); 测定乳苣种子萌发过程中淀粉酶活性<sup>[25]</sup> (水杨酸法) 和蛋白酶活性<sup>[25]</sup> (Folin-酚法); 测定乳苣种子萌发过程中磷酸果糖激酶活性、苹果酸脱氢酶活性和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性。

### 1.3 数据分析

试验中所有数据均采用 Excel 进行基本处理和图表制作, 使用 SPSS26 软件进行差异性比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 温度对乳苣种子萌发的影响

由表 1 可知, 乳苣种子在不同温度处理下萌发起始时间各有不同, 用时最短的为 15/30 °C 处理, 第 3 天开始萌发, 用时最长的为 10 °C 处理, 10 d 时开始萌发, 0、5、30 和 35 °C 处理种子始终未萌发; 在恒温处理下种子发芽率与发芽势极低且与变温处理差异显著 ( $P < 0.05$ ); 乳苣种子发芽率、发芽势在 15/30 °C 变温下显著高于其余处理。15/30 °C 变温发芽率最高 (54.40%), 分别比 15 °C、15/20 °C、15/25 °C、10/25 °C 和 20/35 °C 温度明显提高 47.8%、47.74%、33.3%、6.77% 和 6.67%; 乳苣种子发芽率随着温差的增大而上升, 当温差达到 15 °C 时, 10/25 °C、15/30 °C 和 20/35 °C 3 个处理乳苣种子萌发率都达到 47.00% 以上; 同时乳苣种子的发芽指数在不同温度处理下的表现与发芽率类似; 15/30 °C 变温发芽指数最高 (10.39), 分别比 15 °C、15/20 °C、15/25 °C、10/25 °C 和 20/35 °C 显著提高 8.99、7.16、6.61、5.67 和 0.95。以上结果表明 15/30 °C 变温条件最适合乳苣种子的萌发。

### 2.2 温度对乳苣种子贮藏物质的影响

**2.2.1 可溶性蛋白含量变化** 种子萌发过程中蛋白质通过水解转化为可溶性蛋白参与各种酶系统的激活与膜系统的修复。图 1 (a) 为不同温度下乳苣种子可溶性蛋白含量变化情况。各温度下干种子中可溶性蛋白含量为 24.49 mg·g<sup>-1</sup>; 在 15 °C 温度下可溶性蛋白含量在 2 d 时先下降到 21.07 mg·g<sup>-1</sup>, 在 4 d 时上升到 23.29 mg·g<sup>-1</sup>, 4~10 d 可溶性蛋白含量最

终下降到  $21.65 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 在  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下可溶性蛋白含量在 2 d 时下降到  $19.92 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 在 4 d 时上升到  $23.14 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 之后可溶性蛋白一直下降到  $22.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下可溶性蛋白 2 d 时先下降到  $21.5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  后, 在 6 d 时在出现峰值, 随着萌发继续可溶性蛋白急剧下降到到最终的  $18.83 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

**2.2.2 可溶性糖含量变化** 种子萌发时细胞生物活性逐步加强, 呼吸强度明显增加, 可溶性糖是直接参与种子萌发供能的物质。图 1 (b) 为不同温度下

乳苣种子可溶性糖含量变化情况。乳苣干种子中可溶性糖为  $0.027\%$ ; 在  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下, 乳苣种子可溶性糖含量在 2~4 d 迅速下降后在 6 d 快速上升到峰值, 再急剧下降后快速升高保持在  $0.021\%$ ; 在  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下乳苣种子可溶性糖含量 2 d 快速下降到  $0.015\%$  后, 在 4 d 上升到  $0.024\%$  后缓慢下降, 但可溶性糖含量始终保持在  $0.019\%$  以上;  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度可溶性糖含量在 2 d 下降到  $0.013\%$  后在缓慢升高到  $0.02\%$  后迅速下降到  $0.009\%$ 。

表 1 温度对乳苣种子发芽指标的影响

Table 1 Effects of temperature on germination indices of *L. tatarica* seeds

温度设置/ $^{\circ}\text{C}$	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	始发时间/d
0	0	0	-	-
5	0	0	-	-
10	$5.5\pm 0.11^{\text{e}}$	0	$0.165\pm 0.02^{\text{i}}$	10
15	$6.6\pm 0.05^{\text{d}}$	$3.3\pm 0.23^{\text{e}}$	$1.399\pm 0.02^{\text{f}}$	6
20	$4.4\pm 0.01^{\text{f}}$	0	$0.957\pm 0.02^{\text{h}}$	8
25	$5.5\pm 0.05^{\text{e}}$	0	$1.146\pm 0.04^{\text{g}}$	7
30	0	0	-	-
35	0	0	-	-
15/20	$6.66\pm 0.12^{\text{d}}$	$3.3\pm 0.02^{\text{e}}$	$3.23\pm 0.03^{\text{d}}$	5
15/25	$21.1\pm 0.03^{\text{c}}$	$10.0\pm 0.04^{\text{d}}$	$3.78\pm 0.02^{\text{d}}$	5
10/25	$47.63\pm 0.01^{\text{b}}$	$11.1\pm 0.02^{\text{c}}$	$4.72\pm 0.04^{\text{c}}$	6
15/30	$54.4\pm 0.11^{\text{a}}$	$45.5\pm 0.03^{\text{a}}$	$10.39\pm 0.03^{\text{a}}$	3
20/35	$47.73\pm 0.05^{\text{b}}$	$41.1\pm 0.04^{\text{b}}$	$9.44\pm 0.02^{\text{b}}$	4

注: 不同小写字母代表在 ( $P < 0.05$ ) 水平上差异显著。下同。

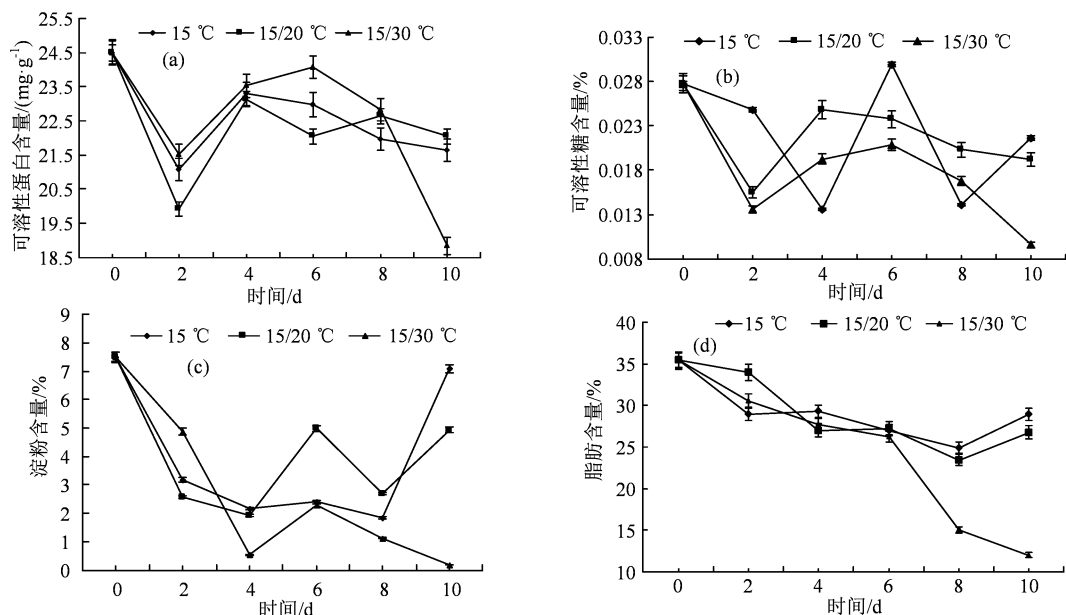


图 1 温度对乳苣种子萌发过程中可溶性蛋白、可溶性糖、淀粉和脂肪的变化

Figure 1 Changes of soluble protein, soluble sugar, starch and fat during germination of *L. tatarica* seeds by temperature

**2.2.3 淀粉含量变化** 淀粉为种子中贮藏最常见的碳水化合物, 种子萌发过程中淀粉被动员分解为小

分子物质被种子萌发所利用, 其含量变化与种子代谢密切相关。图 1 (c) 为不同温度处理下乳苣种子

淀粉变化情况。在 15 °C 温度下淀粉含量在 2 ~ 6 d 逐渐下降到 2.39%，6 ~ 10 d 回升到 7.08%，呈显著的先下降后上升的趋势；15/20 °C 温度下淀粉含量在 4 d 时下降到 1.91%，在 6 d 时上升到 4.98%，在 8 d 又下降到 2.69% 后，在 10 d 回升到 4.92%，总体呈先下降后上升再下降再上升的趋势；在 15/30 °C 温度下，0 ~ 4 d 淀粉含量急剧下降到 0.52%，6 d 小幅上升到 2.39% 后，最终缓慢下降到 0.19%。

**2.2.4 脂肪含量变化** 脂肪为种子高能量贮藏物，

种子萌发时脂肪水解为甘油和脂肪酸后，进一步转变为糖类为种胚提供生长代谢能量。图 1 (d) 为不同温度下乳苣种子脂肪变化情况。15 °C 和 15/20 °C 温度下脂肪含量在 0 ~ 10 d 一直呈下降趋势，从 35.44% 下降到 25% 左右，下降幅度波动较小；15/30 °C 温度下脂肪含量 0 ~ 6 d 保持平稳的下降趋势，6 d 开始迅速从脂肪含量 35.44% 下降到 10 d 的 11.99%，下降幅度较大。

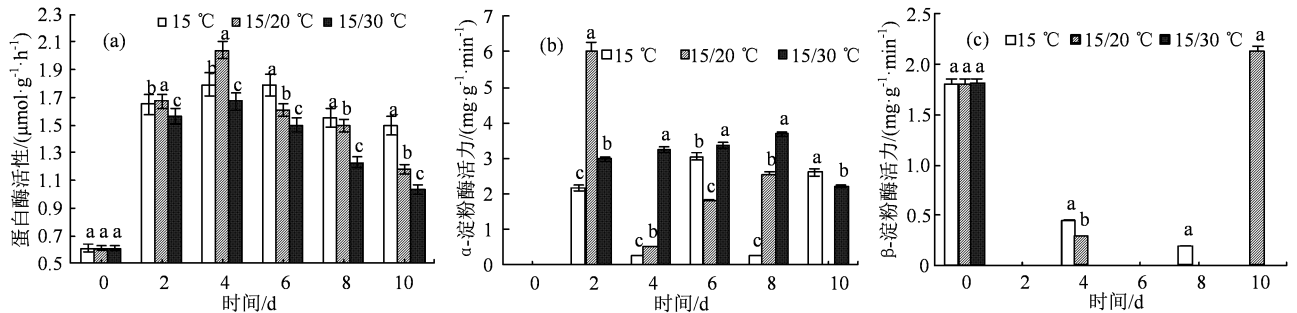


图 2 温度对乳苣种子萌发过程中蛋白酶活性和淀粉酶活力的影响

Figure 2 Effects of temperature on protease and amylase activities of *L. tatarica* seeds during germination

**2.3 温度对乳苣种子蛋白酶和淀粉酶的影响**

如图 2 (a) 所示，乳苣种子蛋白酶存在于干种子中，不同温度下乳苣种子蛋白酶活性都呈先上升后下降趋势；15/30 °C 温度下 0 ~ 10 d 蛋白酶活性都低于 15 °C 和 15/20 °C 温度下活性，且差异显著 ( $P < 0.05$ )。

降后快速升高并保持在  $2.6 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ；15/20 °C 温度  $\alpha$ -淀粉酶活性在 2 d 升高到  $6.03 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  后，在 4 d 迅速下降到  $0.25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  后，在 4 ~ 8 d 又缓慢上升到  $2.53 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ；15/30 °C 温度下  $\alpha$ -淀粉酶活性 2 ~ 8 d 一直保持在  $2.98 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  水平以上，且  $\alpha$ -淀粉酶活性高于其余处理达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。

由图 2 (b) 可知，乳苣种子的  $\alpha$ -淀粉酶不存在于干种子中，在 0 d 未检测到，不同温度下  $\alpha$ -淀粉酶活性与对应温度下可溶性糖含量变化趋势类似；15 °C 温度下  $\alpha$ -淀粉酶活性在 2 d 迅速升高到  $2.15 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  后，在 4 d 下降到  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ，在 6 d 快速上升到峰值的  $3.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ，再急剧下

如图 2 (c) 所示， $\beta$ -淀粉酶存在于乳苣干种子中，15 °C 和 15/20 °C 温度下 2 ~ 8 d  $\beta$ -淀粉酶活力都低于  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$   $\beta$ -淀粉酶活力极低；15/30 °C 温度下在乳苣种子萌发过程中并没检测到  $\beta$ -淀粉酶的活性。

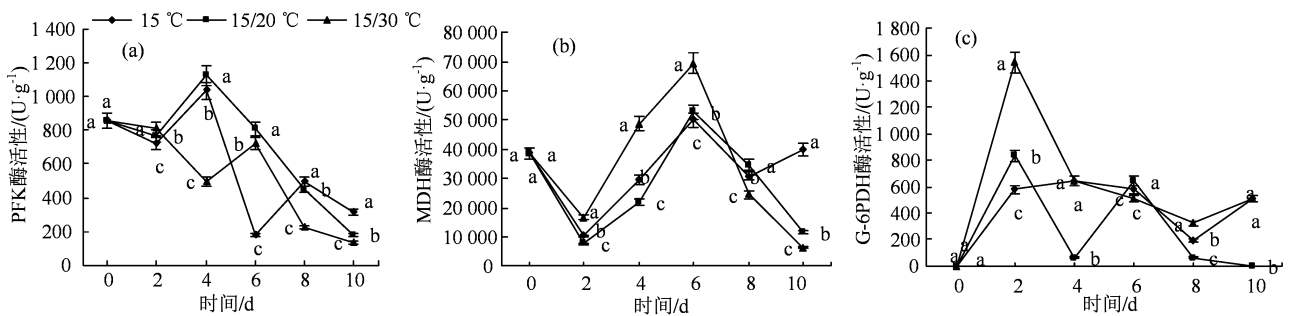


图 3 温度对乳苣种子萌发过程中呼吸代谢关键酶的影响

Figure 3 Effects of temperature on key enzymes of respiration metabolism during seed germination of *L. tatarica*

**2.4 温度对乳苣种子呼吸代谢关键酶的影响**

**2.4.1 磷酸果糖激酶 (PEK) 活性变化** 如图 3 (a) 所示，PEK 存在于乳苣干种子中，15 °C 温度下乳苣

种子中 PEK 活性从 0 d 的  $855 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  上升到 4 d 的  $1035 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  达到峰值，4 ~ 6 d 活性迅速下降到  $180 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  的最低值，6 ~ 8 d 稍有回升，但活性始终保持

在  $450 \sim 315 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  之间, 趋势总体呈现先上升后迅速下降的趋势;  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下 PEK 活性与  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  相似, 也表现为先上升后迅速下降的状态, 在 4 d 达到峰值  $1\,125 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  后直线下降到最终的  $180 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ;  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下 PEK 活性  $0 \sim 10 \text{ d}$  从  $855 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  水平一直保持下降的趋势, 最终保持在  $135 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  水平。

**2.4.2 苹果酸脱氢酶 (MDH) 活性变化** 如图 3 (b) 所示, MDH 存在于乳苣干种子中,  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下 MDH 活性  $0 \sim 2 \text{ d}$  下降到最低点的  $10\,288 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , 在  $2 \sim 6 \text{ d}$  活性迅速上升到峰值  $50\,514 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , 其活性约是  $0 \text{ d}$  的 1.31 倍, MDH 活性在  $8 \sim 10 \text{ d}$  活性下降到干种子的活力水平上;  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下 MDH 活性呈先下降后上升再下降的趋势, 同样在  $0 \sim 2 \text{ d}$  下降到最低点  $7\,716 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , 在  $2 \sim 6 \text{ d}$  上升到  $52\,726 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  达到峰值, 其活性约是  $0 \text{ d}$  的 1.36 倍,  $6 \sim 10 \text{ d}$  快速下降到  $11\,574 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ;  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下 MDH 活性趋势与  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度相似, MDH 活性  $2 \text{ d}$  为  $16\,718 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , 处于最低点, 在  $6 \text{ d}$  达到  $69\,444 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  水平是  $0 \text{ d}$  的 1.8 倍, 其  $2 \sim 6 \text{ d}$  MDH 活性明显高于其余温度并达到显著水平。

**2.4.3 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH) 活性变化** 由图 3 (c) 可知, G6PDH 不存于乳苣干种子中, 其活性随着乳苣种子吸水逐渐活化;  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下 G6PDH 活性  $0 \sim 4 \text{ d}$  缓慢上升,  $4 \text{ d}$  时为  $578.7 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , 达到最高点,  $4 \sim 10 \text{ d}$  缓慢下降, 呈先缓慢升高后缓慢下降的趋势;  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度 G6PDH 活性  $0 \sim 2 \text{ d}$  达到的峰值  $835.9 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $2 \sim 4 \text{ d}$  迅速下降后又快速上升, 最终 G6PDH 活性下降到干种子水平, 呈先升高后下降再上升再下降的趋势;  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下其 G6PDH 活性在  $0 \sim 2 \text{ d}$  急速升高, 达到  $1\,543 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ , 分别为  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度的 2.66 倍,  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度的 1.84 倍,  $2 \sim 10 \text{ d}$  G6PDH 活性缓慢下降, 但其活性仍保持在  $500 \sim 600 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  之间, 与其余温度相比差异显著。

### 3 讨论

#### 3.1 温度对乳苣种子萌发影响

温度是影响种子萌发的重要环境因子, 植物种子萌发对温度要求可用最低、最适、最高“三基点”来表示, 这与其生境条件和生长习性有关<sup>[26]</sup>。大量的研究表明, 大多数植物种子最适萌发温度在  $20 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  之间<sup>[27-28]</sup>, 低于或高于最适温度均不利于种子萌发。另有研究表明变温条件下种子发芽率高于恒温, 多数野生性状较强的植物种子需要适当的昼夜温度变化才能发芽更好<sup>[29-31]</sup>。万雅雯等发现变温处理下

更利于提高毛竹种子的发芽率与发芽势<sup>[32]</sup>。本研究中乳苣种子在  $0 \sim 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$  的恒温处理下发芽率与发芽势均很低, 而在变温处理条件下乳苣种子发芽率可达 54.4%, 不同温差之间发芽率呈显著差异, 具体表现为  $5 \text{ }^{\circ}\text{C} < 10 \text{ }^{\circ}\text{C} < 15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 这可能与乳苣生境昼夜气温变化剧烈有关<sup>[33]</sup>, 这种萌发机制是对外界自然环境长期适应性的表现。

#### 3.2 温度对储藏物质及相关酶的影响

种子萌发过程十分复杂, 除外部环境因子影响种子萌发外, 一般不需要外来的营养物质, 种子内部贮藏着丰富的淀粉、蛋白、脂肪等大分子营养物质, 它们都可以为种子萌发提供能量需要。萌发过程中通过相应的水解酶水解为可溶性小分子, 再通过生化代谢途径进行转化与利用, 之后为种子的萌发提供能量<sup>[33-34]</sup>。本研究中, 在  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下, 可溶性蛋白、可溶性糖、淀粉和脂肪都在  $0 \sim 2 \text{ d}$  呈下降趋势。这可能由于种子萌发初期细胞膜连续界面不完整, 细胞内含物透过膜发生渗漏现象。 $3 \sim 6 \text{ d}$  淀粉被动员分解为可溶性糖, 经过糖代谢为种子萌发提供能量, 种子快速萌发。种子萌发过程中各种贮藏物质的水解利用存在时间差异, 乳苣种子萌发前淀粉含量迅速下降, 在种子露白后可溶性蛋白和脂肪含量开始下降, 说明在乳苣种子露白之前, 种子主要利用的贮藏物质为糖类, 胚根突破种皮后脂肪开始水解转化为碳水化合物。这与木本油料植物西蒙得木种子和欧洲榛子种子萌发贮藏物质动员情况相似<sup>[35-36]</sup>。

种子萌发时酶的形成有两个来源, 一是干种子内部预先贮藏的各类酶活化而来, 二是种子吸水后重新合成。酶类活动的增加在种子萌发过程中起到关键的作用。从本试验中可以看出乳苣种子淀粉酶与淀粉、可溶性蛋白与蛋白酶变化关系密切。在种子未受胁迫的情况下, 蛋白酶水解种子中的蛋白质, 其含量会降低, 使可溶性蛋白和游离氨基酸含量升高<sup>[33]</sup>, 种子中的可溶性蛋白是重要的渗透调节物质, 它们的增加和积累可提高细胞的保水能力, 对细胞的生命物质及生物膜起到保护作用, 而且会增强种子对逆境的适应能力<sup>[37-39]</sup>。乳苣种子在  $15/30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  温度下正常萌发, 蛋白酶活性低于  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  和  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  两温度, 可能是  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  和  $15/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  两温度对乳苣种子萌发形成温度胁迫, 不利于种子萌发, 使得蛋白酶活性增强。

淀粉的降解主要靠淀粉酶完成, 淀粉酶会将自身贮藏淀粉等糖分分解为葡萄糖<sup>[40]</sup>, 水解淀粉的主要淀粉酶为  $\alpha$ -淀粉酶和  $\beta$ -淀粉酶,  $\alpha$ -淀粉酶水解淀

粉产生葡萄糖和麦芽糖后为种子提供能量,而 $\beta$ -淀粉酶水解产物为 $\beta$ -极限糊精和 $\beta$ -麦芽糖,其直接产物没有葡萄糖与寡糖<sup>[41]</sup>。乳苣种子在15/30℃温度下, $\alpha$ -淀粉酶始终保持着较高的活性,其走势与可溶性糖走势呈正相关,与淀粉含量呈负相关, $\alpha$ -淀粉酶活性与种子萌发高峰期重合,10d时种子萌发率稳定 $\alpha$ -淀粉酶活性下降,这可能与乳苣种子萌发后期淀粉含量减少有关。在15/30℃温度中没有检测到 $\beta$ -淀粉酶活性,说明乳苣在适温条件下萌发首先由 $\alpha$ -淀粉酶水解碳水化合物为种子萌发提供能量。在一定程度上可以认为乳苣种子贮藏的碳水化合物主要为直链淀粉,或者直链淀粉的分解与利用优于支链淀粉,因此为乳苣萌发提供糖类贮藏物质的主要为直链淀粉。而且乳苣种子中 $\alpha$ -淀粉酶活性与种子萌发成正相关,这与小麦<sup>[42]</sup>和七叶一枝花<sup>[43]</sup>萌发中淀粉酶活性变化趋势相似。

### 3.3 呼吸关键酶的活性变化

呼吸作用是一切生物细胞的共同特征,其机能的恢复可为种子萌发提供能量,为重要有机物合成提供原料并为代谢活动提供能量,在种子萌发过程中发挥着重要作用。种子萌发过程中存在不同的呼吸途径,主要为糖酵解途径(EMP)、三羧酸循环(TCA)以及磷酸戊糖途径(PPP)等。

糖类在EMP中被代谢是呼吸作用产生能量的第一步。PEK是一种变构酶,它催化6-磷酸果糖转化为1,6-二磷酸果糖,这一反应可以看作EMP的限速反应。EMP的速率也严格取决于PEK的活性大小<sup>[44]</sup>。乳苣种子在15/30℃处理下,PEK活性不断降低,EMP维持低活化状态,这可能是由于种子中溶解氧含量不高或者葡萄糖供应不足导致。葡萄糖通过EMP形成的苹果酸和丙酮酸并不是呼吸终产物,这些物质在线粒体基质中,通过TCA被氧化。TCA的活化程度可以通过MDH活性来反映,它能够催化苹果酸和草酰乙酸两者之间的互相转化,可以很好地反映种子呼吸特点<sup>[45]</sup>。乳苣种子在15/30℃处理下,MDH活性先降后升与可能与EMP强度低、造成起始底物供应不足有关。

PPP是另一种葡萄糖分解机制,它是一个不需要通过EMP而对葡萄糖进行直接氧化的过程,为细胞生物分子构建和核酸合成提供原料并产生大量NADPH<sup>[46]</sup>。赵永华等<sup>[47]</sup>认为,外部环境因子稳定的条件下,植物细胞内葡萄糖的分解利用主要是由EMP/TCA来完成,但是当植物处于不同的生理状态时(例如种子萌发),PPP也可以实现有氧呼吸和糖代谢。PPP的第一阶段的为氧化阶段,6-磷酸葡

萄糖经两次脱氢氧化及脱羧后发生非可逆转化,其中G6PDH为这一阶段的关键酶,其活性可以直接反映PPP反应速度和活化程度<sup>[34]</sup>。

乳苣种子在15/30℃温度下,G6PDH活性相较于其他两个处理有大幅提高,保证乳苣种子萌发所需能量的供应,确保中间产物顺利转入合成代谢,为细胞分裂提供所需的还原力和生物合成原料物质,高效产能的PPP占据主导地位,随着PPP启动乳苣种子快速萌发。圆齿野鸦椿、白皮松种子萌发的关键因素就是PPP的充分活化,使其在各呼吸途径中占据主导地位<sup>[31,48]</sup>,本研究结果与这基本相似。

## 4 结论

通过本研究得知乳苣种子萌发需要15℃左右的温差条件,15/30℃温度条件下发芽率最高,这与其花果期重合(6—9月)。变温条件下发芽率高以便与雨季(7—8月)一致,这为乳苣属植物自然种群的恢复以及人工大规模栽培与利用提供理论支持;乳苣种子在萌发初期,内部贮藏物质碳水化合物被最先动员,当胚根突破种皮后,脂肪、蛋白质动员加快;乳苣种子萌发过程中 $\alpha$ -淀粉酶活性与种子萌发率成正比;乳苣种子在萌发过程中TCA与PPP同时参与,但PPP作用更显著。

## 参考文献:

- [1] 姜黎,赵振勇,张科,等. 温度与盐分对囊果碱蓬种子萌发特性的影响[J]. 中国草地学报, 2021, 43(10): 115-120.
- [2] 邵丽娟,万雅雯,苏佳露,等. 箬竹种子萌发及温度对幼苗生长的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(3): 426-431.
- [3] 朱莹,孟昕,盖枫. 不同温度处理对7种丁香属植物种子萌发特性的影响[J]. 种子, 2020, 39(12):32-37.
- [4] 段加玉,勾天兵,谢朋,等. 温度对紫椴种子萌发及萌发过程中物质转化的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(19): 31-34.
- [5] 童琪,钟雁,李婧,等. 不同温度对迷人杜鹃种子萌发与幼苗生长及生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2020, 40(03): 471-477.
- [6] 马毓泉. 内蒙古植物志[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1985.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第八十卷 第一分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 70-75.
- [8] 苏玥,刘娟娟,完斌,等. 乳苣叶绿体基因组特征及其系统发育分析[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(6): 33-42.
- [9] 林玲,虞赟,陈智明,等. 野苣荬及其近似种间亲缘关系研究[J]. 福建农业学报, 2017, 32(10):1077-1081.
- [10] 李龙梅,牛俊美,苏雨萌,等. 乳苣营养器官氨基酸含

- 量的动态变化规律[J]. 生物学杂志, 2021, 38(1): 56-60.
- [11] 李龙梅, 牛俊美, 铁英, 等. 不同生长期乳苣营养器官矿物质营养元素含量的动态变化[J]. 中国瓜菜, 2020, 33(8): 40-44.
- [12] 高义霞, 景红艳, 姜祖君, 等. 响应面分析法优化乳苣总黄酮提取工艺的研究[J]. 中药材, 2010, 33(4): 621-624.
- [13] 周向军, 高义霞, 李娟娟, 等. 乳苣多酚提取工艺及抗氧化研究[J]. 中国酿造, 2011, 30(9): 118-121.
- [14] 侯雨歌, 王菲, 李洪影, 等. 响应面法优化蒙山莨苣黄酮的提取研究[J]. 辽宁石油化工大学学报, 2019, 39(2): 21-26.
- [15] 钱春香, 孙丽娜, 薛璇玑, 等. 乳苣全草石油醚部位化学成分的研究[J]. 中草药, 2017, 48(7): 1302-1305.
- [16] WANG X X, JIA Z J. Two new lanostane-type triterpenoids from *Mulgedium tataricum*[J]. Chinese Chem Lett, 2006, 17(2): 204-206.
- [17] WANG X X, LIN C J, JIA Z J. Triterpenoids and sesquiterpenes from *Mulgedium tataricum*[J]. Planta Med, 2006, 72(8): 764-767.
- [18] 黄河胜, 马传庚, 陈志武. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(10): 589-592.
- [19] 高义霞, 陶超楠, 郑婷, 等. 乳苣不同溶剂提取物对  $\alpha$ -淀粉酶的抑制作用及光谱研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 104-109.
- [20] 曹纬国, 刘志勤, 邵云, 等. 黄酮类化合物药理作用的研究进展[J]. 西北植物学报, 2003, 23(12): 2241-2247.
- [21] 王小雄. 菊科和木贼科三种药用植物化学成分及其生物活性[D]. 兰州: 兰州大学, 2006.
- [22] 蒋佳君, 韩雨珊, 刘小敏, 等. 乳苣水提取物对人肺癌细胞 SPCA-1 生长的影响[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2016, 45(5): 631-636.
- [23] 张彩艳, 刘小敏, 华子义, 等. 乳苣水提取物诱导肺癌细胞 H1299 和 A549 的凋亡[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2014, 43(2): 196-203.
- [24] 张瑞霞, 程秀英. 紫花山莨苣的栽培及利用[J]. 内蒙古农业科技, 2001, 29(S1): 26.
- [25] 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.
- [26] 白梦杰, 陶奇波, 韩云华, 等. 十种荒漠植物种子萌发对温度的响应[J]. 草业学报, 2019, 28(12): 53-62.
- [27] 高婷婷, 毛培春, 郭强, 等. 温度对 10 个白三叶品种种子萌发特性的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2014, 34(1): 59-64.
- [28] 贺佳圆, 王靖婷, 白小明, 等. 温度对 8 个野生早熟禾材料萌发特性的影响[J]. 草业科学, 2013, 30(3): 383-389.
- [29] 崔现亮, 罗娅婷, 毕廷菊, 等. 储藏和萌发温度对青藏高原东缘 12 种灌木种子萌发的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(1): 23-32.
- [30] 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.
- [31] 郭聪聪, 沈永宝, 史锋厚. 白皮松种子萌发过程中呼吸代谢和内源激素对温度变化的响应[J]. 中南林业科技大学学报, 2021, 41(3): 25-36.
- [32] 万雅雯, 傅华君, 时培建, 等. 变温对毛竹种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45(4): 97-106.
- [33] 岳佳铭, 李曼莉. 萌发过程中种子贮藏物质的动员和变化规律概述[J]. 种子, 2021, 40(1): 56-62.
- [34] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [35] 韩克杰, 孙霞, 邢世岩, 等. 欧洲榛子贮藏及萌发生理特性研究[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(5): 435-440.
- [36] 李明蔓, 邓祥胜, 杨梅, 等. 浸种对西蒙得木种子萌发阶段贮藏物质动员的影响[J]. 种子, 2021, 40(10): 12-19.
- [37] LI X J, YANG M F, CHEN H, et al. Abscisic acid pretreatment enhances salt tolerance of rice seedlings: Proteomic evidence[J]. Biochim Biophys Acta BBA Proteins Proteom, 2010, 1804(4): 929-940.
- [38] TADA Y, KASHIMURA T. Proteomic analysis of salt-responsive proteins in the mangrove plant, *Bruguiera gymnorhiza*[J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50(3): 439-446.
- [39] 李春燕, 陈思思, 徐雯, 等. 苗期低温胁迫对扬麦 16 叶片抗氧化酶和渗透调节物质的影响[J]. 作物学报, 2011, 37(12): 2293-2298.
- [40] 高荣岐, 张春庆. 种子生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- [41] 郑昆, 杨红. 淀粉酶的研究现状与进展[J]. 食品安全导刊, 2019(18): 53.
- [42] 王丽, 权有娟, 李想, 等. 青海不同海拔地区小麦种子萌发过程中  $\alpha$ -淀粉酶活性差异比较[J]. 农学学报, 2020, 10(7): 19-23, 34.
- [43] 苏海兰, 周先治, 李希, 等. 七叶一枝花种子萌发不同阶段贮藏物质及淀粉酶活性变化[J]. 福建农业学报, 2017, 32(10): 1145-1149.
- [44] 王镜岩. 生物化学[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [45] 张贝贝, 陶张欢, 汪新颖, 等. 单体异柠檬酸脱氢酶的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(12): 43-46.
- [46] 潘瑞焱. 植物生理学[M]. 7 版. 北京: 高等教育出版社, 2012.
- [47] 赵永华, 杨世林, 刘惠卿, 等. 西洋参种子休眠解除与磷酸戊糖途径关系的研究[J]. 中草药, 2001, 32(3): 259-261.
- [48] 张莉梅, 张子晗, 刘源, 等. 低温层积过程中圆齿野鸦椿种子的生理生化变化[J]. 种子, 2015, 34(7): 37-40.