

马尾松种子发育过程中种仁 贮藏物质的积累与变化*

王培蒂 秦国峰

摘要 连续4 a以不同发育阶段的马尾松种子为试材,研究其种仁贮藏物质的积累过程及其组分含量的变化规律。结果表明:(1)种仁的干重占成熟球果干重的4.8%。其贮藏物质随种胚发育而不断变化,粗脂肪、粗蛋白和总糖的最终含量分别为:44.76%、42.50%和7.14%(其中淀粉和可溶性糖分别为4.26%与2.88%)。(2)酶蛋白的最大含量在原胚阶段初为20.83%,以后至幼胚阶段急剧减少到4.9%。(3)脂肪由4种脂肪酸组成,以不饱和酸含量最高(亚油酸为65.7%,油酸21.7%);饱和酸中的棕榈酸和硬脂酸仅为9.2%和3.4%。(4)种仁的氨基酸主要有16种,其中有14种的最低含量出现在原胚阶段初;10种的最高含量在幼胚阶段初。以精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸3种含量高,达3.06%~7.13%;赖氨酸、酪氨酸、组氨酸、胱氨酸和蛋氨酸5种的含量低,在1.00%以下。

关键词 马尾松种子、种仁贮藏物质、积累与变化、脂肪酸、氨基酸

我国马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)种子园多数建于80年代中期,目前已进入投产阶段,但是种子产量不高,平均每公顷不到7.5 kg。为了改变马尾松种子园低产现状,既要在建园前严格选用遗传品质好的建园材料,又要在建园后应用科学的管理技术。而探明马尾松种子发育过程中种仁贮藏物质的积累与变化规律,正是为种子园科学管理提供依据。出于上述原因,特开展本项研究。

1 试验方法

1.1 试样处理

1.1.1 球果采集 7~11月,于浙江省淳安县姥山林场的马尾松育种园内,固定8年生的6个样株,在树冠的中层,分东、南、西、北四个方向采集球果。7~8月每个月采一次,9~11月每半个月采一次,每次采65~85个球果不等。然后逐果剥取种子,置105℃干燥箱中杀青10 min,于80℃烘至恒重后称其干重,于干燥器内保存。

1.1.2 种仁剥取 种子发育成熟过程中,由于内外因子的综合影响,会出现各种形态的败育。因此,对每批样品以足数供试种子样品为基础,剥去种皮(种壳),从中取得发育正常的种仁作为分析试样。

1.2 测定方法

1.2.1 粗脂肪 参照GB 2902-82,用瑞典产的Tecator 1043索氏提取仪测定。

1995-04-17收稿。

王培蒂副研究员,秦国峰(中国林业科学研究院亚热带林业研究所 浙江富阳 311400)。

* 本文为“八五”国家科技攻关课题“马尾松短周期工业用材良种选育”的一部分。承蒙中国水稻研究所谷化系分析室测定粗蛋白、淀粉和可溶性糖及各种氨基酸;农药研究室测定粗脂肪和脂肪酸组分。本所生物技术室苏梦云副研究员测定酶蛋白。淳安县姥山林场储德裕和汪长平协助采样,一并致谢!

1. 2. 2 粗蛋白质 参照 GB 2905-82, 用瑞典产的 Tecator 1030 凯氏定氮仪测定。
1. 2. 3 淀粉和可溶性糖 用岛津 120-2 分光光度计, 盐酸水解法测定。
1. 2. 4 酶蛋白 用上海产的 721 比色计, OD500 nm, 酚试剂法测定。
1. 2. 5 氨基酸 经 5.7 N HCl 110 水解 22 h, 水解后定容至 50 mL。用日立 835-50 氨基酸分析仪测定。
1. 2. 6 脂肪酸 先以三氟化硼甲酯化, 再以色谱-质谱联机定性定量。美国 HP 5890A GC/HP 5970B MSD/HP 5965A FTIR 三联机, GC/MSD, HP-101 * 0.2 mm * 50 m 熔硅毛细管柱, 载气高纯氮(99.999 5%)、柱压 30 kPa, 分流进样; 进样口温度 240 , 柱温为程序升温, GC/MS 接口温度 250 , 质谱离子源 E 170 ev, 扫描范围 50 ~ 310 amu。

2 结果和分析

2.1 球果各部分的干物质积累过程

马尾松球果由珠鳞(种鳞)、球果轴和胚珠(种子)组成。而发育正常的种子由胚、胚乳和种皮(即种子外壳)三部分构成。其中胚是发育新植株的原始体, 胚乳中贮藏着胚在发育过程中所需的养料, 因此由胚和胚乳所构成的种仁, 是种子的最重要部分。种皮主要为受精后珠被的中层区(中种皮)的厚壁石细胞构成, 约有 9 ~ 10 层, 所以马尾松的种皮较薄。现将球果的种鳞(含果轴和种翅)、种子、种仁和种皮等 4 部分干物质的积累过程叙述如下。

球果和种鳞的干重变化基本一致, 其中原胚阶段的增重率高, 为 61.8% 和 66.8% (见表 1、2), 以后增长缓慢。种子的干物质大量积累是在幼胚阶段前期, 增重率为 54.9%。种仁重量的增加在种胚发育的三个阶段相差不大, 增重率分别为 30.5%、32.6% 和 36.9%。种皮的增重主要是在原胚和幼胚阶段, 增重率为 53.4% 和 46.5%, 以后就不再增加。

表 1 马尾松球果在各胚胎发育阶段的干物质积累

发育阶段	日期 (月—日)	球 果						发 育 种 子						
		合计		种鳞		种子		合计		种仁		种皮		
		g/果	%	g/果	%	g/果	%	g/果	%	g/果	%	g/果	%	
原胚	07—02	4.08	100	3.89	95.3	0.186	4.7	0.152	3.8	0.027	0.7	0.124	6.3	1.1
	08—02	6.94	100	6.64	95.7	0.295	4.3	0.304	4.4	0.146	3.2	0.158	1.2	2.3
幼胚	09—02	7.62	100	7.04	92.4	0.578	7.6	0.382	7.5	0.222	2.9	0.160	0.2	2.1
	09—19	8.46	100	7.84	92.7	0.624	7.3	0.461	5.4	0.274	3.2	0.187	3.2	2.2
成熟胚	10—25	8.67	100	7.98	92.0	0.686	8.0	0.546	6.8	0.359	4.6	0.187	3.2	2.2
胚成熟后	11—05	8.71	100	8.01	92.0	0.698	8.0	0.605	7.0	0.418	4.8	0.187	3.2	2.2
	11—14	8.71	100	8.01	92.0	0.698	8.0	0.605	7.0	0.418	4.8	0.187	3.2	2.2

注: 表中球果栏中的“种鳞”包括球果的鳞片、球果轴和种翅三部分; 种子包括发育正常的种子和异常种子两部分。

从表 1 还可以看出: (1) 在原胚至幼胚阶段初的 7 月初至 8 月初, 种皮的干重大于种仁。(2) 种鳞的干物质占球果百分数的变幅最小(92.0% ~ 95.3%); 变幅较大的为种子和种皮(4.3% ~ 8.0% 和 2.1% ~ 3.1%); 变幅最大的为种仁(0.7% ~ 4.8%)。

2.2 种仁贮藏物质含量的变化

经测试, 种仁所积累的有机物质主要是大量的粗脂肪、粗蛋白质以及少量的总糖(淀粉和可溶性糖)(见图 1)。它们为胚的发育和种子萌发提供丰富的养料。

表2 马尾松球果各部分干物质在各胚胎发育阶段的增重率

发育阶段	日期 (月-日)	球果		种鳞		种子		种仁		种皮	
		增重 (g/果)	增率 (%)	增重 (g/果)	增率 (%)	增重 (g/果)	增率 (%)	增重 (g/果)	增率 (%)	增重 (g/果)	增率 (%)
原胚	07-02										
	08-02	2.86	61.8	2.75	66.8	0.109	21.2	0.119	30.5	0.034	54.0
幼胚	09-02	0.68	14.7	0.40	9.7	0.283	54.9	0.076	19.5	0.002	3.2
	09-19	0.84	18.1	0.80	19.4	0.050	9.7	0.051	13.1	0.027	42.8
成熟胚	10-25	0.21	4.5	0.14	3.4	0.062	12.0	0.085	21.8	0	0
胚成熟后	11-05	0.04	0.9	0.03	0.7	0.012	2.3	0.059	15.1	0	0
	11-14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合计		4.63	100	4.12	100	0.513	100	0.390	100	0.063	100

注:表中增重栏数字系两阶段间的差数。

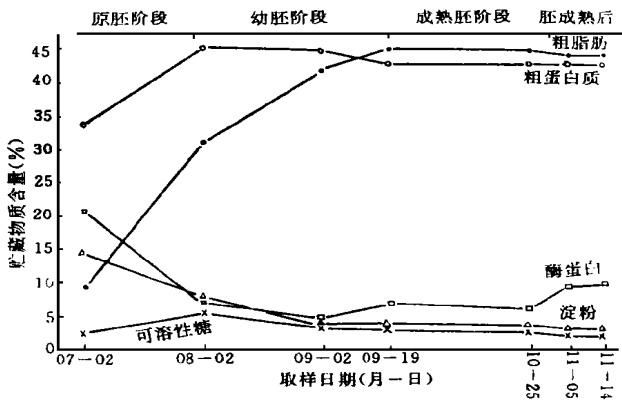


图1 马尾松种子成熟过程中种仁贮藏物质含量的变化

2.2.1 粗脂肪 马尾松种仁内的脂肪是一类重要的贮藏物质,粗脂肪中的类脂,是细胞生物膜(包括细胞质膜、核膜和各种细胞器的膜)的重要组成部分。经测定,原胚阶段的7月初脂肪已开始形成,含量为4.47%(最小值),随即急剧增升到幼胚阶段末的9月中旬,并达到最大值(44.78%);进入成熟胚阶段后,积累趋于稳定;胚成熟后的半个月中含量略有下降。

粗脂肪形成可分为二个时期:前期——原胚至幼胚阶段的80 d,为粗脂肪迅速积累贮藏时期,增重率为100%;后期——成熟胚阶段的37 d,是脂肪积累的稳定期,含量几无变化,胚成熟后的15 d中,脂肪积累略有减少。

2.2.2 粗蛋白质 蛋白质为原生质的主要成分。马尾松种仁在发育成熟过程中也能积累大量的贮藏蛋白质。图1表明其含量的最小值(为33.80%)出现在原胚阶段初,然后急剧上升到幼胚阶段初,达到最大值(45.0%);以后平稳下降到42.50%;自成熟胚阶段至胚成熟后15 d的期间,曲线变化稳定,其含量不变。由上看出马尾松种仁中含油脂量高而蛋白质的含量也高。这是因为脂质种子在发育期间也能合成较多的贮藏蛋白质^[1]。

2.2.3 酶蛋白 以蛋白质的功能为基础进行分类,酶蛋白是其中的一种。酶蛋白的含量高,则种仁组织的代谢旺盛。经测试,酶蛋白的含量最大值(为20.83%)出现在原胚阶段初,以后含量逐渐下降到幼胚阶段的中期末(9月2日),并达到最小值(4.90%),以后又缓慢上升,到胚成熟后的第14 d含量达9.83%。

2.2.4 淀粉和可溶性糖 淀粉和可溶性糖是碳水化合物的主要成分,对脂肪转化和积累都有重要意义。淀粉含量在原胚阶段初达到最大值(14.75%),随着种胚的发育,含量迅速下降至幼

胚阶段中期, 以后达到最小值(3.32%)。

可溶性糖含量的最小值(2.61%)出现在原胚阶段初, 最大值(5.46%)出现幼胚阶段初, 以后随着脂肪的继续积累而相应减少, 并趋于稳定。

2.3 种仁的脂肪酸组分和各种氨基酸的含量

2.3.1 脂肪酸组分 马尾松种仁内的粗脂肪主要由4种脂肪酸组成。其中以亚油酸(18-2)最高, 最终含量占脂肪酸总量的65.2%, 其次油酸(18-1)为21.3%, 棕榈酸(16-0)较少, 为9.2%, 硬脂酸(18-0)最少, 仅3.4%。表明马尾松种仁的脂肪酸组成以不饱和脂肪酸为主, 达86.3%; 饱和脂肪酸(棕榈酸和硬脂酸)较低, 仅为16.7%(见表3)。

表3 马尾松种仁脂肪酸在各胚胎发育阶段中的组分含量 (单位: %)

发育阶段	日期 (月-日)	不饱和脂肪酸			饱和脂肪酸		
		合计	亚油酸(18-2)	油酸(18-1)	合计	棕榈酸(16-0)	硬脂酸(18-0)
原胚	07-02	72.7	<u>56.8</u>	<u>15.9</u>	27.3	<u>24.5</u>	<u>2.8</u>
	08-02	88.4	59.9	<u>28.5</u>	11.6	<u>7.2</u>	<u>4.4</u>
幼胚	09-02	86.2	63.9	22.3	13.8	9.8	4.0
	09-19	87.1	<u>65.7</u>	21.4	12.9	9.4	3.5
成熟胚	10-25	87.3	65.5	21.8	12.7	9.3	3.4
胚成熟后	11-05	87.4	65.7	21.7	12.6	9.2	3.4
	11-14	87.4	65.7	21.7	12.6	9.2	3.4

注: (1)表中含量值下方的单横线(—)表示最小值; 双横线(=)表示最大值, 下同。(2)表中分子式说明: 如亚油酸(18-2), “18”为碳原子数; “2”为不饱和中心个数(即双键数)。

种子成熟过程中, 种仁脂肪酸的组分含量也有变化(见图2)。亚油酸(18-2)的含量自原胚至幼胚阶段逐渐增加, 并达到最大值(65.7%), 以后平稳几无变化。油酸(18-1)的含量从原胚至幼胚阶段初急剧增升, 并达到最大值(28.5%), 接着又下降到幼胚阶段末, 以后趋于稳定。棕榈酸(16-0)的含量在原胚阶段急剧下降至幼胚阶段初并达到最小值(7.2%), 以后上升, 自幼胚阶段中期后趋于稳定。硬脂酸(18-0)的含量较为平缓: 自原胚到幼胚阶段初缓慢增升, 并达到最大值(4.4%), 以后随着种胚的成熟, 趋于稳定。

图2又明显反映出: (1)亚油酸、油酸和硬脂酸的最小值是出现在原胚阶段初, 而棕榈酸在幼胚阶段初。(2)除棕榈酸的含量在原胚阶段前期高于油酸外, 以后一直低于油酸。(3)棕榈酸和硬脂酸的含量低, 分别占亚油酸的1/7和1/19。

2.3.2 各种氨基酸 氨基酸是蛋白质的构成成分。马尾松种子种仁内主要存在16种氨基酸, 其含量各不相同。由表4看出, 精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸的含量较高, 在成熟胚阶段分别为7.13%、6.75%和

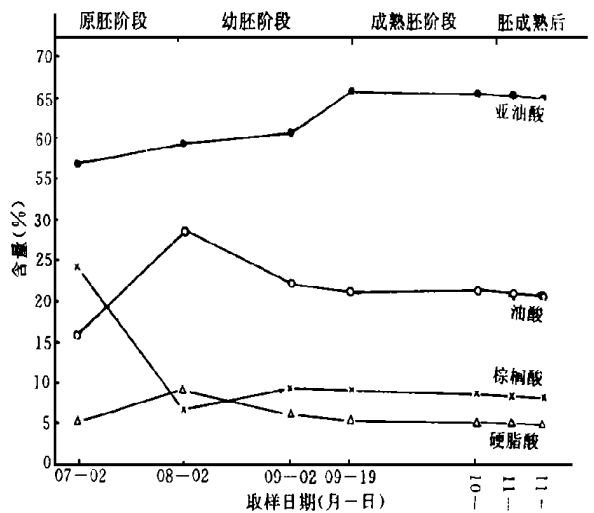


图2 马尾松种仁成熟过程脂肪酸组分的含量变化

3. 06% ; 赖氨酸、酪氨酸、组氨酸、胱氨酸和蛋氨酸的含量低(1% 以下)。

种子发育成熟过程中, 种仁内各种氨基酸含量的变化规律有共同之处也有不同之处。其中有 14 种氨基酸的最低含量出现在原胚阶段初(7 月 2 日), 而赖氨酸和异亮氨酸是出现在幼胚阶段末(9 月 19 日); 10 种氨基酸的最高含量出现在幼胚阶段初(8 月 2 日), 5 种是出现在幼胚阶段中期末(9 月 2 日), 唯赖氨酸是出现在原胚阶段初。

种胚成熟后的半个月有 9 种氨基酸(即精氨酸、缬氨酸、谷氨酸、胱氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和酪氨酸)的含量有所增加, 6 种略有减少(即天冬氨酸、丙氨酸、甘氨酸、苏氨酸、脯氨酸和组氨酸), 唯丝氨酸基本不变。

表 4 马尾松种子成熟过程种仁氨基酸组分的含量变化

(单位: %)

氨基酸		原胚阶段		幼胚阶段		成熟胚阶段		胚成熟后	
		7月2日	8月2日	9月2日	9月19日	10月25日	11月5日	11月14日	
精氨酸	ARG	3.64	7.42	<u>7.55</u>	7.08	7.13	7.25	7.28	
谷氨酸	GLU	3.60	<u>7.45</u>	7.12	6.65	6.75	6.79	6.82	
天冬氨酸	ASP	2.67	<u>3.27</u>	3.17	2.97	3.06	3.01	3.04	
亮氨酸	LEU	<u>1.81</u>	<u>2.75</u>	2.73	2.53	2.57	2.57	2.59	
丙氨酸	ALA	<u>1.39</u>	<u>1.70</u>	1.64	1.54	1.60	1.58	1.58	
缬氨酸	VAL	<u>1.26</u>	<u>1.83</u>	1.78	1.67	1.71	1.72	1.75	
丝氨酸	SER	<u>1.19</u>	<u>2.12</u>	2.11	1.96	1.99	1.96	1.99	
甘氨酸	GLY	<u>1.13</u>	1.73	<u>1.74</u>	1.61	1.68	1.66	1.66	
异亮氨酸	ILE	1.07	<u>1.13</u>	1.08	<u>1.00</u>	1.03	1.04	1.08	
酪氨酸	TYR	<u>0.91</u>	1.59	<u>1.65</u>	1.53	1.31	1.54	1.54	
脯氨酸	PRO	<u>0.88</u>	<u>1.73</u>	1.52	1.47	1.47	1.40	1.43	
苏氨酸	THR	<u>0.89</u>	<u>1.03</u>	0.98	0.91	0.96	0.94	0.94	
赖氨酸	LYS	<u>1.52</u>	1.12	0.85	<u>0.79</u>	0.79	0.81	0.83	
组氨酸	HIS	<u>0.57</u>	<u>0.81</u>	0.79	0.74	0.79	0.77	0.78	
胱氨酸	CYS	<u>0.41</u>	0.81	<u>0.82</u>	0.77	0.51	0.77	0.79	
蛋氨酸	HET	<u>0.40</u>	0.67	<u>0.73</u>	0.69	0.70	0.71	0.75	
合计		23.34	37.16	36.26	33.91	34.33	34.52	34.85	

3 讨论

(1) 马尾松种子发育过程中, 种仁干物质、脂肪和脂肪酸中含量最高的亚油酸(18:2)的大量积累是在原胚到幼胚阶段的 7 月到 9 月; 蛋白质和 15 种氨基酸的大量形成是在原胚阶段的 7 月至 8 月初。马尾松种子种仁内脂肪的量 and 质主要取决于亚油酸(18:2)的含量高低。因此, 有利于马尾松种子的生长发育和种仁贮藏物质积累的种子园管理措施应在各类物质迅速形成前的 6~8 月加强, 才能有效提高种子的千粒重及脂肪的量和质。

(2) 在马尾松种子种仁内含量丰富的脂肪是一类重要的贮藏物质, 它是种子萌发过程中主要的能量来源。从脂肪酸组分测试中得知不饱和酸中的亚油酸(18:2)在整个过程中为 56.8%~65.7%。在种子长期贮藏时, 不饱和脂肪酸极不稳定, 容易氧化变质。因此, 在种子长期贮藏时, 为了有效保持离体种质资源的优良品质, 需要设法防止或减轻种仁油脂中不饱和酸的氧化。经多年种子贮藏试验, 采用低温密封贮藏是一种简便有效的方法^[2]。

(3) 连续 4 a 的分析结果表明, 形态成熟后的马尾松种子, 如继续留在母树上达半个月之

久, 种仁的干物质和酶蛋白继续在增加(增重 5.9% 和 3.39%), 9 种氨基酸含量也有所增加。这可能是由于裸子植物种子的母体效应较为突出, 其种子需要在一定时间内由形态成熟达到生理成熟。

参 考 文 献

- 1 (加)比尤利 L D, (英)布莱克 M (何泽英, 袁以苇, 林榕辉, 等合译). 种子萌发的生理生化(第一卷). 南京: 江苏科学技术出版社, 1981. 59 ~ 60.
- 2 王培蒂, 秦国峰. 长期贮藏对马尾松种子品质的影响. 林业科学研究, 1994, 7(2): 193 ~ 198.

The Accumulation and Change Trend of Storage Substance of the Masson Pine s Seed Kernels in It s Developing Procedure

Wang Peidi Qing Guofeng

Abstract Seed kernels at various developmental stages were used as experimental materials to systematically study the accumulative procedure of storage substances and change trend of component contents. It was showed that the seed kernel accounts for 4.8% of dry weight of the ripen cone and its storage substances change with the embryo development. The contents of gross fat, gross protein and total carbohydrate of ripen seed kernels are 44.8%, 42.5% and 6.54% respectively, while starch and soluble carbohydrate account for 4.26% and 2.88% respectively. Enzymic protein content decreases from the maximum at early phase of proembryo stage (20.83%) to the minimum at young embryo (4.9%). Here the fat of the seed kernels consists of four kinds of fatty acid, of which the content of unsaturated fatty acid is much more than each one of the saturated fatty acid. Lindeic, oleic, palmitic and stearic acid accounting for 65.7%, 21.7%, 9.2% and 3.4% of the total fatty acid respectively. It was found that seed kernels of masson pine contain mainly 16 kinds of amino acid, of which the minimum content of the 14 kinds appears at the proembryo stage and the maximum content of the 10 kinds at the early phase of young embryo stage. Among 16 kinds of amino acid, the contents of arginine, glutamic and aspartic acid are higher (from 3.0% to 7.5%), and lysine, tyrosine, histidine, cystine and methionine the lower (< 1%).

Key words seed of masson pine, storage substance of seed kernel, accumulative procedure and change trend, fatty acid, amino acid

Wang Peidi, Associate Professor, Qing Guofeng (The Research Institute of Subtropical Forestry, CAF Fuyang, Zhejiang 311400).