

激光与光电子学进展

低温胁迫对谷物种子萌发影响的红外光谱研究

车前¹, 刘刚^{1*}, 田雪¹, 欧全宏¹, 严伟敏¹, 时有明²¹云南师范大学物理与电子信息学院, 云南 昆明 650500;²曲靖师范学院物理与电子信息学院, 云南 曲靖 655011

摘要 种子萌发作为植物生命历程的开端, 直接影响作物的最终产量。种子萌发常遭遇低温的影响, 严重威胁粮食生产安全。利用傅里叶变换红外光谱结合曲线拟合研究低温对谷物种子(藜麦、青稞、水稻和小麦)萌发的影响。研究结果显示, 4种谷物种子的发芽势、发芽率和发芽指数都随温度的降低而下降, 青稞种子在4℃低温下的发芽率和发芽指数仍然较高, 表明青稞种子的耐低温能力更强。红外光谱结果显示, 低温胁迫下的谷物种子原始红外光谱整体特征相似, 主要由多糖、脂肪和蛋白质的特征吸收峰组成。对低温胁迫下的谷物种子多糖(1200~950 cm⁻¹)和酰胺 I 带(1700~1600 cm⁻¹)进行曲线拟合, 结果显示: 藜麦种子的多糖含量上升, 蛋白质含量下降; 青稞种子的多糖和蛋白质含量均呈先升后降的趋势; 水稻种子的多糖含量下降, 蛋白质含量上升; 小麦种子的多糖含量呈先升后降的趋势, 蛋白质含量呈先降后升的趋势。另外, 在低温胁迫下, 藜麦、青稞、水稻和小麦种子中都有不同比例的蛋白质二级结构从无序转向有序。因此, 傅里叶变换红外光谱结合曲线拟合是一种研究低温胁迫对种子萌发影响的有效方法。

关键词 光谱学; 谷物种子; 低温胁迫; 红外光谱; 曲线拟合

中图分类号 O657.33

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP221586

Effects of Low-Temperature Stress on Grain Seeds Germination by Infrared Spectroscopy

Che Qian¹, Liu Gang^{1*}, Tian Xue¹, Ou Quanhong¹, Yan Weimin¹, Shi Youming²¹School of Physics and Electronic Information, Yunnan Normal University, Kunming 650500, Yunnan, China;²School of Physics and Electronic Engineering, Qujing Normal University, Qujing 655011, Yunnan, China

Abstract As the beginning of the plant life process, seed germination directly affects the final crop yield. Low-temperature frequently inhibit seed germination, posing a serious threat to food production safety. The effects of low-temperature on the germination of grain seeds (quinoa, highland barley, rice, and wheat) were investigated in this paper using Fourier transform infrared spectroscopy combined with curve-fitting. The results showed that the germination potential, germination rate, and germination index of the four grain seeds decreased as the temperature decreased, but the germination rate and germination index of highland barley seeds remained high at 4 °C, indicating that highland barley seeds had stronger low-temperature tolerance. The results of infrared spectrum demonstrated that the original infrared spectra of grain seeds under low-temperature were similar, mainly composed of the characteristic absorption peaks of polysaccharide, fat, and protein. Under low-temperature stress, the curve fitting analysis for polysaccharide (1200–950 cm⁻¹) and amide I band (1700–1600 cm⁻¹) in quinoa seeds revealed that polysaccharide content increased while protein content decreased. The polysaccharide and protein content of highland barley seeds increased at first, then decreased. The content of polysaccharide in rice seed decreased, while the content of protein increased. The polysaccharide content of wheat seeds increased first and then decreased, while the protein content decreased first and then increased. Furthermore, under low-temperature stress, different proportions of protein secondary structures in quinoa, highland barley, rice, and wheat seeds changed from disorder to order. As a result, Fourier transforms infrared spectroscopy combined with curve fitting is an efficient method for investigating the effect of low-temperature stress on seed germination.

Key words spectroscopy; grain seeds; low-temperature stress; infrared spectroscopy; curve fitting

收稿日期: 2022-05-12; 修回日期: 2022-06-20; 录用日期: 2022-08-12; 网络首发日期: 2022-08-22

基金项目: 国家自然科学基金(31760341)、云南省高校科技创新团队支持计划

通信作者: *gliu66@163.com

1 引言

种子是最基本的农业生产资料。而种子萌发是植物生命的开端,种子萌发过程决定了植物何时进入农业生态系统以及进入之后的状态,所以,种子的理想萌发是长成幼苗的基础,同时也是保证粮食产量的基础。

目前,已有多种方法应用于种子萌发研究,主要包括一些化学方法,如 3, 5-二硝基水杨酸法、考马斯亮蓝 G-250 法、稀碘液比色法、索氏抽提法和茚三酮显色法等^[1]。其中:3, 5-二硝基水杨酸法可用于测定还原糖含量和淀粉酶活性;考马斯亮蓝 G-250 法用于测定蛋白质含量;稀碘液比色法用于测定淀粉酶活性;索氏抽提法可以测定粗脂肪含量;茚三酮显色法可以测定氨基酸含量^[2]。倪万潮等^[3]采用 3, 5-二硝基水杨酸法测定水稻种子萌发过程中的淀粉酶活性,用蒽酮比色法测定其可溶性糖和可溶性蛋白质含量,结果表明,不同品种水稻种子在萌发过程中的 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性差异显著,可溶性糖和可溶性蛋白质含量也不相同。但化学方法提取制样过程复杂,操作繁琐。色谱法、质谱法、蛋白质组学分析等方法也用于种子研究。丁杰等^[4]将气相色谱法应用于丝瓜种子,发现未萌发的丝瓜种子中没有检测到乙烯,但是萌发过程中可以在不同阶段测到乙烯的释放速率,而且结果偏差较小。色谱法步骤多、技术性强。Sallam 等^[5]用 HPTLC 与质谱联用成像技术测定发芽豆类种子中的叶酸含量,研究表明,种子的发芽导致叶酸含量增加 2.5~4 倍。但质谱法耗材、仪器成本高,结果易受干扰。张玮等^[6]用蛋白质组学对淹水胁迫下萌发的玉米种子进行定量研究,结果鉴定出了不同数量的差异蛋白、上调蛋白和下调蛋白,对其中的差异蛋白进行分析发现,差异蛋白大多参与了不同的代谢过程,并且蛋白质组学分析操作繁琐。

光谱技术具有经济、简便、快速、无需繁琐的样品制备过程等优点,光谱技术已运用到农业研究领域。李响等^[7]利用核磁共振谱技术研究绿豆种子萌发过程中的代谢变化,发现乙酸、胆碱、蔗糖、 α -葡萄糖和 α -半乳糖等物质的含量在绿豆种子萌发过程中呈现不同的变化规律。Zhou 等^[8]利用高光谱成像技术预测甜菜种子的发芽情况,发现高光谱成像技术能对甜菜种子的发芽情况进行准确预测。刘燕德等^[9]阐述了太赫兹光谱技术在农产品品质检测和种类鉴别方面的研究进展。焦俊等^[10]分别介绍了光谱技术在核桃品种鉴别、长势检测、品质鉴定和分选加工方面的研究进展。本文利用傅里叶变换红外光谱技术,结合曲线拟合分析,研究低温胁迫对谷物种子萌发的影响,以期为逆境胁迫下的种子萌发机理提供光谱学参考。

2 材料与方 法

2.1 材料和种子萌发实验

实验用的藜麦种子产于青海,青稞种子产于西藏,水稻种子产于云南,小麦种子产于安徽,4 种谷物种子收获后都在自然条件下储藏。溴化钾(KBr)购买于天津博天胜达科技公司。

4 种谷物种子的低温萌发处理:设置了 5 个温度,分别为 25 °C、20 °C、15 °C、10 °C 和 4 °C,其中 25 °C 为对照组(CK)温度。供试种子均用体积分数 2% 的 NaClO 溶液消毒 15 min,用超纯水冲洗干净。选取饱满的种子均匀放入铺有 2 层滤纸的培养盒内,藜麦种子每盒 50 粒,青稞、水稻和小麦种子每盒 25 粒,每个处理重复三次。培养条件为昼夜恒温,设置为 12 h 光照、12 h 黑暗,每个温度处理下的种子都培养 7 天,种子萌发期间保持培养盒中的种子湿润。在萌发期间(第 3 天、第 7 天)测定不同温度处理下的种子发芽势、发芽率和发芽指数,各处理下胚轴伸出 2 mm 记为发芽。

发芽势=第 3 天发芽种子数/供试种子数 $\times 100\%$ 。

发芽率=第 7 天发芽种子数/供试种子数 $\times 100\%$ ^[11]。

发芽指数=每日种子发芽数/种子发芽天数^[12]。

2.2 光谱测量和数据处理软件

将萌发 7 天后的种子样品干燥并研磨成粉末,加入 KBr 粉末混合研磨,混合均匀后进行压片,然后放入光谱仪测量光谱,每种样品测 10 组光谱,每组光谱测量可在 1 min 内完成。红外光谱采集用 Spectrum10 软件,使用 Omnic 8.2 处理软件对所采集的原始红外光谱进行预处理,利用 Origin 9.0 软件对 10 次测量的原始红外光谱进行曲线拟合分析。

2.3 实验仪器及设备

智能恒温光照培养箱购自上海力辰科技有限公司,光谱仪为美国 Perkin Elmer 公司生产的 Frontier 型傅里叶变换红外光谱仪,光谱范围为 4000~400 cm^{-1} ,分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描次数为 32。

3 结果与讨论

3.1 低温胁迫对谷物种子萌发的影响

发芽势可以代表种子的发芽速度和发芽整齐度以及种子活力的强弱程度。由表 1 可知:4 种谷物种子的发芽势均在 25 °C 条件下最高,小麦种子的发芽势高达 80%,青稞种子为 52%,水稻种子为 18%,藜麦种子仅为 8%。这说明,适温下小麦种子的发芽速度最快、出苗最整齐、种子活力也最强。随温度的降低,4 种谷物种子的发芽势均出现不同程度的下降。其中:水稻种子的发芽势下降最快,在 20 °C 胁迫下,其发芽势降为 0;在 4 °C 胁迫下,青稞种子的发芽势仍为 18%,这表明青稞种子的耐低温能力最强。

由表 2 可知,在 25 °C 条件下,小麦和青稞种子的发芽率最高,均为 96%,水稻种子的发芽率为 78%,藜麦

表 1 低温胁迫对 4 种谷物种子发芽势的影响
Table 1 Effects of low-temperature stress on germination potential of four grain seeds unit: %

Grain varieties	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
Quinoa	8±0.9	4±0.5	5±0.4	2±0.1	2±0.01
Highland barley	52±3.6	52±3.1	40±2.6	22±1.8	18±1.5
Rice	18±1.3	0	0	0	0
Wheat	80±2.8	70±3.1	64±3.1	8±0.7	0

表 2 低温胁迫对 4 种谷物种子发芽率的影响
Table 2 Effects of low-temperature stress on the seed germination rate of four grain seeds unit: %

Grain varieties	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
Quinoa	22±1.3	9±0.9	8±0.7	6±0.4	4±0.3
Highland barley	96±3.9	92±4.3	86±2.3	78±2.8	74±3.0
Rice	78±3.1	68±2.8	0	0	0
Wheat	96±3.3	88±3.4	84±3.1	80±2.7	8±0.6

种子的发芽率仅为 22%。水稻种子的发芽率偏低可能与萌发时间有关,水稻种子的正常萌发时间在 10 天

表 3 低温胁迫对 4 种谷物种子发芽指数的影响
Table 3 Effects of low-temperature stress on germination index of four grain seeds unit: %

Grain varieties	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
Quinoa	12.56±1.00	5.63±0.02	5.32±0.04	5.24±0.03	1.67±0.01
Highland barley	18.57±1.41	18.72±0.05	22.05±1.24	14.59±1.35	16.66±0.45
Rice	2.85±0.05	0.18±0.02	0	0	0
Wheat	33.36±0.71	32.24±1.48	24.78±1.20	11.81±0.75	10.52±0.41

3.2 低温萌发谷物种子的 FTIR 光谱分析

不同温度下萌发的 4 种谷物种子的原始红外光谱如图 1 所示。它们的原始光谱整体特征基本相似,共同特征吸收峰如下:在 3700~3100 cm^{-1} 范围内显示的是 O—H 的伸缩振动;在 3100~2800 cm^{-1} 范围内主要是 3010、2927、2856 cm^{-1} 附近的主峰,分别对应 C=C、CH₂ 和 CH₃ 的伸缩振动,主要来自脂质^[16];1744 cm^{-1} 附近的峰为脂类物质中 C=O 的伸缩振动吸收峰;1700~1600 cm^{-1} 和 1600~1500 cm^{-1} 范围内的吸收峰代表蛋白质酰胺 I 带和酰胺 II 带^[17];1500~1200 cm^{-1} 为多糖和蛋白质的混合振动吸收区^[18],在多糖和蛋白质的混合振动吸收区中,1330~1200 cm^{-1} 范围内的吸收峰归属于蛋白质酰胺 III 带^[19];1200~950 cm^{-1} 范围内显示的是糖类特征吸收峰^[20];930 cm^{-1} 附近的吸收峰归属于淀粉中 COH 的弯曲振动。

3.3 低温萌发谷物种子的曲线拟合分析

为了从贮藏物质的角度研究低温胁迫对谷物种子

左右,而本研究设置的萌发时间均为 7 天。藜麦种子的发芽率很低,这可能是本研究所选用的藜麦品种对采前发芽 (PHS) 很敏感^[13],Bazile 等^[14] 的研究表明,PHS 是导致藜麦产量损失和限制栽培扩展的主要问题。与对照组相比,随温度的降低,4 种谷物种子的发芽率整体均呈下降趋势。其中:水稻种子的发芽率下降得最快,在 15 °C 条件下其发芽率降为 0,这说明所选水稻种子的最低萌发温度为 15 °C;在 4 °C 条件下,青稞种子仍有 74% 的发芽率,而藜麦和小麦种子的发芽率分别为 4% 和 8%。结果表明,低温胁迫不同程度降低了 4 种谷物种子的发芽率,青稞种子的发芽率降幅最小,说明青稞种子的耐低温能力最强。

发芽指数是指种子在失去发芽力之前已发生劣变的数量,比发芽率更能灵敏地表现种子活力^[15]。由表 3 可知,在对照组中,小麦种子的发芽指数为 33%,青稞和藜麦种子的发芽指数分别为 18.57% 和 12.56%,水稻种子的发芽指数仅为 2.85%。这进一步表明,在 25 °C 条件下,小麦种子的活力最强。与对照组相比,随温度的降低,4 种谷物种子的发芽指数均呈下降趋势。其中:所选水稻种子的发芽指数下降得最快,在 15 °C 胁迫条件下,其发芽指数降为 0;在 4 °C 胁迫下,青稞种子的发芽指数最高,这同样表明青稞种子的耐低温能力最强。

萌发的影响,本文对低温胁迫下萌发的 4 种谷物种子在 1200~950 cm^{-1} 的多糖范围和 1700~1600 cm^{-1} 的蛋白质酰胺 I 带进行曲线拟合分析。

在 1200~950 cm^{-1} 的多糖范围,1154 cm^{-1} 附近的吸收峰与木聚糖中半乳糖单元的糖苷键振动有关,木聚糖被认为是纤维素家族的代表^[21];1123 cm^{-1} 和 1048 cm^{-1} 附近的吸收峰主要来自阿拉伯糖的贡献^[20],阿拉伯糖是植物中天然存在的一种单糖;1102 cm^{-1} 附近的吸收峰归属于糖原,糖原是一种分子结构与支链淀粉类似的多糖^[20];1080 cm^{-1} 处的吸收峰受果胶中聚半乳糖醛酸的影响,果胶是一种天然的植物多糖;1051 cm^{-1} 和 991 cm^{-1} 附近的吸收峰受淀粉的影响,淀粉是植物的主要能量储存库,也是谷物种子中最重要的贮藏物质;1024 cm^{-1} 附近的吸收峰主要来自麦芽糖的贡献,麦芽糖在自然界中并不常见,但在麦芽或发芽谷物中的含量高^[20]。对于 1700~1600 cm^{-1} 的酰胺 I 带,主要包括 β -折叠、无规则卷曲、 α -螺旋和 β -转角 4 种

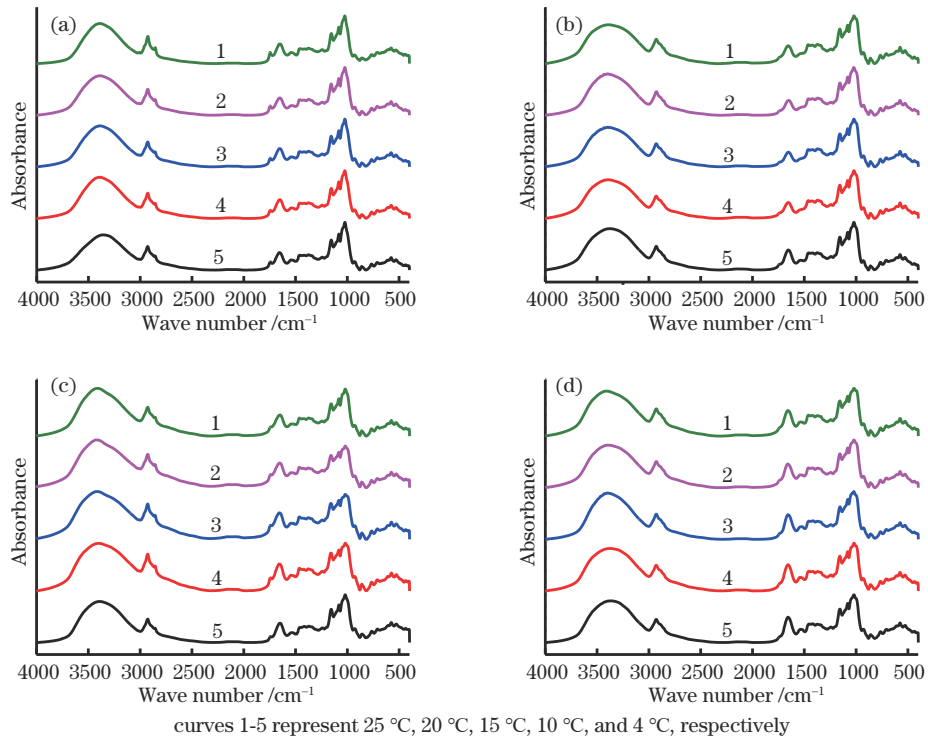


图1 不同温度下萌发的谷物种子傅里叶变换红外光谱。(a)藜麦;(b)青稞;(c)大米;(d)小麦

Fig. 1 Fourier transform infrared spectra of grain seeds germinated at different temperatures. (a) Quinoa; (b) highland barley; (c) rice; (d) wheat

二级结构^[19]。酰胺 I 带的二级结构如下:1600~1625、1626~1640、1686~1670 cm^{-1} 分别为分子间、分子内和反向平行 β -折叠;1641~1650 cm^{-1} 为无规则卷曲;1651~1660 cm^{-1} 为 α -螺旋;1661~1685 cm^{-1} 为 β -转角^[21]。

对不同温度下萌发的藜麦种子多糖范围进行曲线拟合,拟合谱如图2所示,拟合结果见表4。可以看出:998 cm^{-1} 附近的峰面积随温度的降低而增大;1023 cm^{-1} 附近,胁迫组的峰面积均大于对照组;1047 cm^{-1} 和1124 cm^{-1} 附近,随温度的降低,峰面积整体呈下降趋势,20 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的峰面积最小;1080 cm^{-1} 和1154 cm^{-1} 附近,峰面积整体随温度的降低呈上升趋势;1100 cm^{-1} 附近,峰面积变化不大。另外,在20 $^{\circ}\text{C}$ 、

15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下,总峰面积依次在对照组的基础上增多了5.85、3.35、3.48、2.00和1.90。结果表明:低温胁迫下,萌发藜麦种子中的淀粉、麦芽糖、果胶和木聚糖含量都随温度的降低而增加;阿拉伯糖的含量则与之相反;糖原含量基本不变。总体而言,多糖含量有所增加。

对不同萌发温度下的青稞种子多糖范围进行曲线拟合,拟合结果见表5。可以看出:993 cm^{-1} 和1054 cm^{-1} 附近,峰面积整体随温度的降低而增大,1024 cm^{-1} 附近,与对照组相比,20 $^{\circ}\text{C}$ 、15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的峰面积依次减少了4.61、2.91、8.30和10.90;1080 cm^{-1} 附近,胁迫组的峰面积均小于对照组;1102 cm^{-1} 附近,20 $^{\circ}\text{C}$ 、15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的

表4 不同萌发温度下的藜麦种子在1200~950 cm^{-1} 范围内的子峰位置及峰面积

Table 4 Sub-peak positions and areas of quinoa seeds at different germination temperatures in the range of 1200-950 cm^{-1}

Wave number ν / cm^{-1}	Temperature				
	25 $^{\circ}\text{C}$ (CK)	20 $^{\circ}\text{C}$	15 $^{\circ}\text{C}$	10 $^{\circ}\text{C}$	4 $^{\circ}\text{C}$
998	25.91	26.53	27.07	29.21	28.34
1023	5.62	13.36	10.94	6.94	9.09
1047	27.43	22.02	22.98	24.40	23.15
1080	5.37	6.61	6.01	5.88	5.89
1100	14.05	15.54	14.65	14.20	14.39
1124	2.85	1.96	2.04	2.18	1.80
1154	13.42	14.93	14.44	13.84	13.89
Total	94.65	100.50	98.13	96.65	96.55

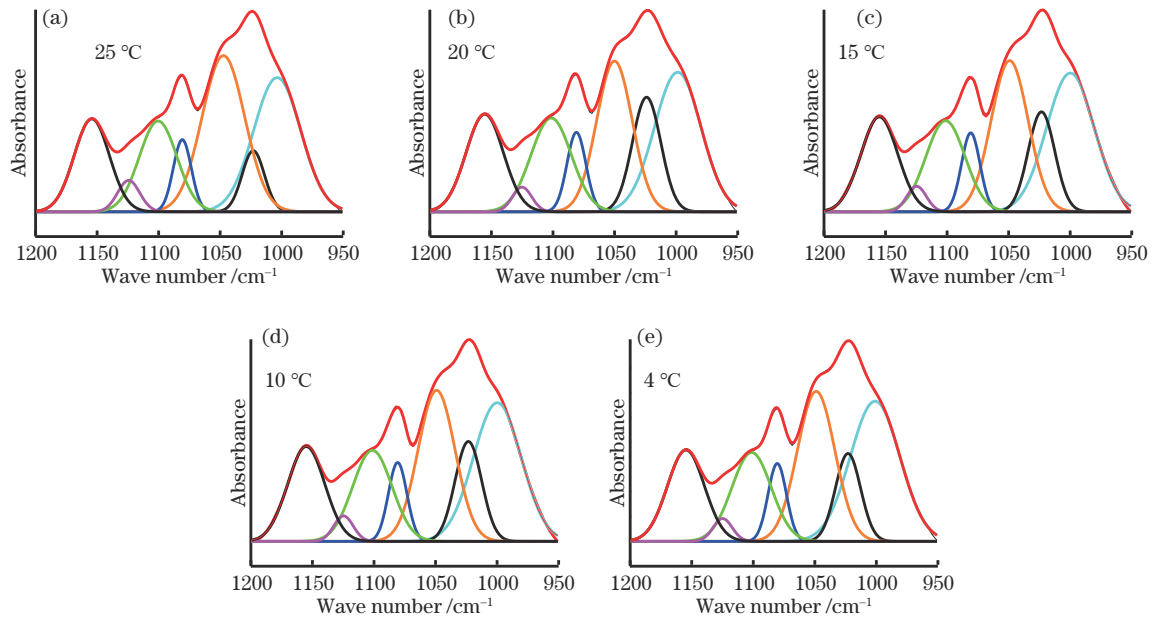


图 2 不同萌发温度下的藜麦种子在 1200~950 cm⁻¹范围内的曲线拟合谱

Fig. 2 Curve fitting spectra of quinoa seeds at different germination temperatures in the range of 1200-950 cm⁻¹

表 5 不同萌发温度下的青稞种子在 1200~950 cm⁻¹范围内的子峰位置及峰面积

Table 5 Sub-peak positions and areas of highland barley seeds at different germination temperatures in the range of 1200-950 cm⁻¹

Wave number ν /cm ⁻¹	Temperature				
	25 °C(CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
993	21.70	23.18	22.43	22.83	24.05
1024	29.38	24.77	26.47	21.08	18.48
1054	12.18	15.49	13.75	15.69	17.52
1080	5.31	4.80	5.00	4.39	4.27
1102	19.06	22.22	20.52	22.12	21.90
1126	0.79	0.68	0.69	0.57	0.71
1158	14.82	13.91	14.15	12.85	13.34
Total	103.24	105.05	103.01	99.53	100.27

峰面积依次比对照组增加了 3.16、1.52、3.03、2.84；1126 cm⁻¹附近，随温度的降低，峰面积总体变化不大；1158 cm⁻¹附近，20 °C、15 °C、10 °C、4 °C胁迫下的峰面积分别在对照组的基础上降低了 0.91、0.67、1.97、1.48。与对照组相比，总峰面积随温度的降低整体呈先增后减的趋势。结果表明：在低温胁迫下，萌发青稞

种子中的淀粉和糖原含量增加；麦芽糖、果胶和木聚糖含量有所下降；阿拉伯糖含量基本不变。总体而言，多糖含量先增加后减少。

对不同萌发温度下的水稻种子多糖范围内进行曲线拟合，拟合结果见表 6。可以看出：998 cm⁻¹和 1050 cm⁻¹附近，峰面积整体随温度的降低而减小；

表 6 不同萌发温度下的水稻种子在 1200~950 cm⁻¹范围内的子峰位置及峰面积

Table 6 Sub-peak positions and areas of rice seeds at different germination temperatures in the range of 1200-950 cm⁻¹

Wave number ν /cm ⁻¹	Temperature				
	25 °C(CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
998	27.49	19.89	17.76	20.75	23.82
1023	11.68	16.36	24.44	21.89	14.83
1050	19.01	11.18	9.18	11.27	17.08
1080	5.27	3.88	4.13	4.44	4.06
1102	16.86	16.41	17.93	18.75	19.32
1126	1.05	0.60	0.59	0.62	0.70
1156	13.47	11.53	12.84	13.73	13.12
Total	94.83	79.85	86.87	91.45	92.93

1023 cm^{-1} 附近,与对照组相比,20 $^{\circ}\text{C}$ 、15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的峰面积依次增多了 4.68、12.76、10.21 和 3.15;1080 cm^{-1} 附近,与对照组相比,20 $^{\circ}\text{C}$ 、15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的峰面积依次减少了 1.39、1.14、0.83 和 1.21;1102 cm^{-1} 附近,随温度的降低,峰面积整体呈递增趋势;1126 cm^{-1} 附近,胁迫组的峰面积均小于对照组;1156 cm^{-1} 附近,10 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的峰面积略大于对照组,其余胁迫温度下的峰面积均小于对照组。与对照组相比,20 $^{\circ}\text{C}$ 、15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的总峰面积依次降低 14.89、7.96、3.38 和 1.90。结果表明:在低温胁迫下,水稻种子中的淀粉、果胶、阿拉伯糖和木聚糖含量减少;麦芽糖和糖原含量增加。总体而言,多糖含量有所下降。

对不同萌发温度下的小麦种子多糖范围内进行曲

表 7 不同萌发温度下的小麦种子在 1200~950 cm^{-1} 范围内的子峰位置及峰面积

Table 7 Sub-peak positions and areas of wheat seeds at different germination temperatures in the range of 1200-950 cm^{-1}

Wave number ν / cm^{-1}	Temperature					
	25 $^{\circ}\text{C}$ (CK)	20 $^{\circ}\text{C}$	15 $^{\circ}\text{C}$	10 $^{\circ}\text{C}$	4 $^{\circ}\text{C}$	
991	19.73	21.55	24.34	23.61	23.44	
1023	30.29	26.59	21.31	22.27	18.70	
1054	10.62	13.82	16.17	14.15	16.17	
1080	4.27	4.44	4.00	4.22	3.99	
1101	22.86	24.13	26.19	22.92	23.27	
1126	0.47	0.47	0.47	0.55	0.47	
1159	13.59	13.20	12.73	13.71	12.60	
Total	101.83	104.20	105.21	101.13	98.64	

对不同萌发温度下的藜麦种子酰胺 I 带进行曲线拟合,拟合谱如图 3 所示,拟合结果见表 8 和表 9。可以看出:与对照组相比,随温度的降低, β -折叠对应的

峰面积呈先减后增的趋势;对于 α -螺旋,20 $^{\circ}\text{C}$ 、15 $^{\circ}\text{C}$ 、10 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$ 胁迫下的峰面积分别比对照组减少了 0.27、0.31、0.61 和 0.99;对于无规则卷曲,15 $^{\circ}\text{C}$ 和

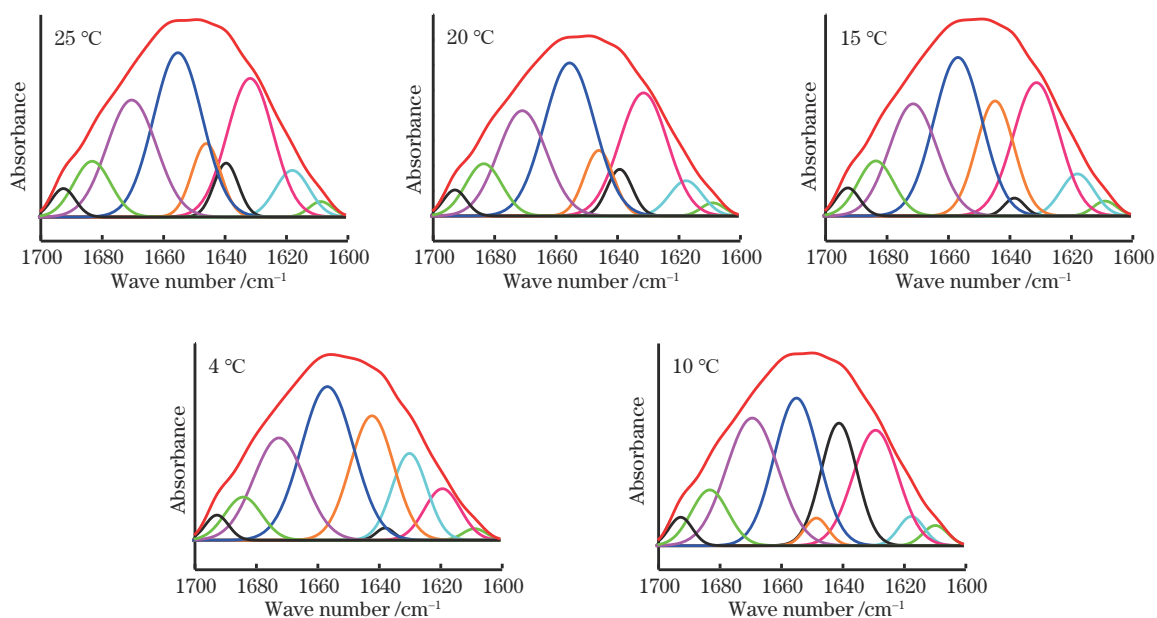


图 3 不同萌发温度下的藜麦种子在 1700~1600 cm^{-1} 范围内的曲线拟合谱

Fig. 3 Curve fitting spectra of quinoa seeds at different germination temperatures in the range of 1700-1600 cm^{-1}

表 8 不同萌发温度下的藜麦种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积

Table 8 Secondary structure peak areas of quinoa seeds in the range of 1700 - 1600 cm⁻¹ at different germination temperatures

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	4.36	3.69	3.62	4.89	4.95
α-helix	3.40	3.13	3.09	2.79	2.41
Random coil	0.89	0.78	1.76	0.28	2.59
β-turns	3.33	2.85	2.97	3.67	0.90
Total	11.98	10.45	11.44	11.63	10.85

表 9 不同萌发温度下的藜麦种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积百分比

Table 9 Percentage of secondary structure peak areas of quinoa seeds in the range of 1700-1600 cm⁻¹ at different germination temperatures unit: %

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	36.37	35.41	31.71	42.05	22.76
α-helix	28.38	29.95	27.00	24.02	30.68
Random coil	7.44	7.42	15.40	2.38	20.65
β-turns	27.81	27.22	25.94	31.65	25.92

4 °C胁迫下的峰面积大于对照组,20 °C和10 °C胁迫下的峰面积小于对照组;对于β-转角,除了10 °C胁迫下的峰面积大于对照组,其余低温胁迫下的峰面积均小于对照组。此外,胁迫组的总峰面积均小于对照组。结果表明:在低温胁迫下,藜麦种子中β-折叠含量先减少后增加,α-螺旋和含量减少,无规则卷曲和β-转角含量呈动态变化,蛋白质含量下降。

由表 9 可知,藜麦种子的蛋白质二级结构以β-折叠和α-螺旋两种有序结构为主,这两种结构占总峰面积百分比的53%以上。在25 °C(CK)、20 °C、15 °C、10 °C和4 °C条件下,β-折叠和α-螺旋的总峰面积百分比依次为64.75%、65.36%、58.71%、66.07%和53.44%。与对照组相比可知:15 °C和4 °C胁迫下分别有6.04%和11.31%的蛋白质二级结构从有序转向无序;20 °C和10 °C胁迫下分别有0.16%和1.32%的蛋白质二级结构从无序转向无有。以上结果表明,在低温胁迫下,藜麦种子中的蛋白质含量和二级结构均发生变化。

对不同萌发温度下的青稞种子酰胺 I 带进行曲线拟合,拟合结果见表 10 和表 11。从表 10 可以看出:对于β-折叠,胁迫组的峰面积整体大于对照组;随温度的降低,α-螺旋对应的峰面积呈先降后升的趋势,在20 °C胁迫下的峰面积最小,仅为1.99;对于无规则卷曲,

表 10 不同萌发温度下的青稞种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积

Table 10 Secondary structure peak areas of highland barley seeds in the range of 1700 - 1600 cm⁻¹ at different germination temperatures

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	3.09	5.16	3.10	3.07	3.36
α-helix	2.89	1.99	3.05	2.02	4.55
Random coil	2.13	1.40	0.49	0.95	0.32
β-turns	2.57	2.95	2.76	3.07	2.75
Total	10.68	11.50	9.40	9.11	10.98

表 11 不同萌发温度下的青稞种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积百分比

Table 11 Percentage of secondary structure peak areas of highland barley seeds in the range of 1700-1600 cm⁻¹ at different germination temperatures unit: %

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	28.91	35.02	32.94	33.71	30.65
α-helix	27.06	20.36	32.44	22.14	41.35
Random coil	19.95	14.31	5.26	10.47	2.95
β-turns	24.07	30.30	29.35	33.69	25.04

20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的峰面积分别在对照组的基础上减少了0.70、1.64、1.18和1.81;对于β-转角,20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的峰面积分别在对照组的基础上增加了0.38、0.19、0.50和0.18。另外,总峰面积随温度的降低呈先增后减的趋势。表明在低温胁迫下,青稞种子中的β-折叠和β-转角含量增加,α-螺旋含量呈动态变化,无规则卷曲整体含量下降,蛋白质含量先增加后减少。

从表 11 可以看出,青稞种子蛋白质二级结构也以β-折叠和α-螺旋两种有序结构为主。在25 °C(CK)、20 °C、15 °C、10 °C和4 °C条件下,这两种结构的总峰面积百分比依次为55.91%、55.38%、65.38%、55.85%和72.00%。与对照组相比,在15 °C和4 °C胁迫下,分别有9.47%和16.09%的蛋白质二级结构从无序转向有序。总体而言,在低温胁迫下,青稞种子中的蛋白质含量和二级结构发生了变化。

对不同萌发温度下的水稻种子酰胺 I 带进行曲线拟合,拟合结果见表 12 和表 13。从表 12 可以看出:对于β-折叠,除了4 °C胁迫下的峰面积和对照组接近,20 °C、15 °C和10 °C胁迫下的峰面积分别比对照组增加了0.48、0.43和1.06;对于α-螺旋,20 °C胁迫下的峰面积比对照组降低了0.03,15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的峰面积分别比对照组增加了0.35、1.37和0.58;对于无

表 12 不同萌发温度下的水稻种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积

Table 12 Secondary structure peak areas of rice seeds in the range of 1700–1600 cm⁻¹ at different germination temperatures

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	3.54	4.02	3.97	4.60	3.50
α-helix	3.70	3.37	4.05	5.07	4.28
Random coil	1.79	1.47	1.66	1.32	3.02
β-turns	2.56	3.33	3.20	4.16	2.35
Total	11.59	12.19	12.88	15.15	13.15

表 13 不同萌发温度下的水稻种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积百分比

Table 13 Percentage of secondary structure peak areas of rice seeds in the range of 1700–1600 cm⁻¹ at different germination temperatures unit: %

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	30.61	32.95	30.82	30.39	26.56
α-helix	31.89	27.65	31.42	33.46	32.57
Random coil	15.43	12.05	12.90	8.73	23.00
β-turns	22.07	27.36	24.86	27.42	17.85

规则卷曲,与对照组相比,20 °C、15 °C和10 °C胁迫下的峰面积分别降低了0.05、0.13和0.47,4 °C胁迫下的峰面积增加了1.32;对于β-转角,20 °C、15 °C和10 °C胁迫下的峰面积分别比对照组高0.77、0.64和1.60,4 °C胁迫下的峰面积比对照组低0.21。此外,20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的总峰面积分别比对照组高0.60、1.29、3.56和1.56。这说明水稻种子中的β-折叠含量随温度降低而增加,α-螺旋含量随温度降低呈动态变化,无规则卷曲含量在20 °C、15 °C和10 °C的低温胁迫下降低,β-转角含量在20 °C、15 °C和10 °C低温胁迫下增加。表明在低温胁迫下,水稻种子中的蛋白含量增加。

从表 13 可以看出,水稻种子蛋白质二级结构中β-折叠和α-螺旋两种有序结构占主导地位。在25 °C(CK)、20 °C、15 °C、10 °C和4 °C条件下,这两种结构的总峰面积百分比依次为62.50%、60.60%、62.24%、63.85%和59.13%。与对照组相比,20 °C、15 °C和4 °C胁迫下分别有1.90%、0.26%和3.37%的蛋白质二级结构从有序转向无序,10 °C胁迫下有1.35%的蛋白质二级结构从无序转向有序。以上结果表明,在低温胁迫下,水稻种子的蛋白质含量和二级结构均发生改变。

对不同萌发温度下的小麦种子酰胺 I 带行曲线拟合,拟合结果见表 14 和表 15。从表 14 可以看出:对于

β-折叠,与对照组相比,20 °C和15 °C胁迫下的峰面积分别降低了0.98和0.02,10 °C和4 °C胁迫下的峰面积分别增加了0.23和0.35;对于α-螺旋,与对照组相比,20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的峰面积依次增加了2.11、2.71、2.54和2.53;对于无规则卷曲,20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的峰面积分别比对照组降低了0.79、0.66、0.70和0.57;对于β-转角,与对照组相比,20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的峰面积依次降低了1.52、0.81、0.49和0.37。此外,与对照组相比,20 °C胁迫下的总峰面积下降了1.18,15 °C、10 °C和4 °C胁迫下的总峰面积依次上升了1.22、1.58和1.94。说明在低温胁迫下,小麦种子中的β-折叠含量先减少后增加,α-螺旋含量增加,无规则卷曲和β-转角含量减少。总体而言,蛋白质含量先减少后增加。

表 14 不同萌发温度下的小麦种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积

Table 14 Secondary structure peak areas of wheat seeds in the range of 1700–1600 cm⁻¹ at different germination temperatures

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	5.29	4.31	5.27	5.52	5.64
α-helix	4.52	6.63	7.23	7.06	7.05
Random coil	0.88	0.09	0.22	0.18	0.31
β-turns	5.11	3.59	4.30	4.62	4.74
Total	15.80	14.62	17.02	17.38	17.74

表 15 不同萌发温度下的小麦种子在 1700~1600 cm⁻¹范围内的二级结构峰面积百分比

Table 15 Percentage of secondary structure peak areas of wheat seeds in the range of 1700–1600 cm⁻¹ at different germination temperatures unit: %

Secondary structure	Temperature				
	25 °C (CK)	20 °C	15 °C	10 °C	4 °C
β-sheet	33.47	29.50	31.00	31.78	31.76
α-helix	28.60	45.30	42.45	40.63	39.77
Random coil	5.56	0.62	1.30	1.01	1.77
β-turns	32.36	24.58	25.25	26.57	26.69

从表 15 可以看出,小麦种子蛋白质二级结构中同样是β-折叠和α-螺旋两种有序结构占主导地位。在25 °C(CK)、20 °C、15 °C、10 °C和4 °C条件下,这两种结构的总峰面积百分比依次为62.07%、74.80%、73.45%、72.41%、和71.35%。与对照组相比,20 °C、15 °C、10 °C和4 °C胁迫下分别有12.73%、11.38%、10.34%和9.28%的蛋白质二级结构从无序转向有序。结果表明,在低温胁迫下,小麦种子中的蛋白质含量和二级结构发生改变。

4 结 论

本文研究表明,在低温胁迫下,藜麦、青稞、水稻和小麦种子的发芽势、发芽率和发芽指数都有不同程度的下降。相比藜麦、水稻和小麦种子,青稞种子在 4 °C 胁迫下的发芽率和发芽指数仍然较高。这说明低温胁迫对 4 种谷物种子的萌发均有抑制作用,青稞种子的耐低温能力最强。低温胁迫下 4 种谷物种子的原始红外光谱的整体特征相似,主要由脂肪、蛋白质和多糖的特征吸收峰构成。

为了定量研究 4 种谷物种子中的多糖和蛋白质在低温胁迫下的变化情况,分别对萌发后的 4 种谷物种子的多糖(1200~950 cm^{-1})和酰胺 I 带(1700~1600 cm^{-1})的原始红外光谱进行曲线拟合。结果表明,低温胁迫下萌发的 4 种谷物种子中的多糖、蛋白质含量和二级结构均发生改变。具体表现为:在低温胁迫下,藜麦种子的多糖含量上升,蛋白质含量下降;青稞种子的多糖和蛋白质含量均呈先升后降的趋势;水稻种子的多糖含量下降,蛋白质含量上升;小麦种子的多糖含量呈先升后降的趋势,蛋白质含量呈先降后升的趋势。另外,在低温胁迫下,藜麦、青稞、水稻和小麦种子中都有不同比例的蛋白质二级结构从无序转向有序。因此,FTIR 结合曲线拟合分析是研究低温胁迫对种子萌发影响的有效方法。

参 考 文 献

- [1] 张志良. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2015: 75-86.
Zhang Z L. Guidance for plant physiology experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2015: 75-86.
- [2] 苏艳玲, 张谨华. 藜麦种子萌发中营养物质变化的研究[J]. 食品工业, 2019, 40(2): 208-210.
Su Y L, Zhang J H. Changes of nutritional composition during germination of quinoa seed[J]. The Food Industry, 2019, 40(2): 208-210.
- [3] 倪万潮, 束红梅, 郭书巧, 等. 不同水稻品种种子萌发生理特性差异研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(2): 1-5.
Ni W C, Shu H M, Guo S Q, et al. Seed germination of rice cultivars: differences in physiological characteristics [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(2): 1-5.
- [4] 丁杰, 秦公伟, 郑利英, 等. 气相色谱法测定丝瓜种子萌发时内源乙烯释放速率[J]. 光谱实验室, 2013, 30(6): 3032-3035.
Ding J, Qin G W, Zheng L Y, et al. Determination of ethylene release rate in *L. cylindrica* seeds during germination by gas chromatography[J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2013, 30(6): 3032-3035.
- [5] Sallam S M, Shawky E, El Sohafy S S. Determination of the effect of germination on the folate content of the seeds of some legumes using HPTLC-mass spectrometry-multivariate image analysis[J]. Food Chemistry, 2021,

362: 130206.

- [6] 张玮, 阮龙, 张欣, 等. 玉米种子萌发响应淹水胁迫的定量蛋白质组学研究[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(9): 134-136, 166.
Zhang W, Ruan L, Zhang X, et al. Study on quantitative proteomics of maize seed germination in response to waterlogging stress[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(9): 134-136, 166.
- [7] 李响, 李中峰, 高俊, 等. 核磁共振光谱结合选择性约束的多元曲线分辨解析绿豆种子萌发中的代谢变化[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(10): 3010-3014.
Li X, Li Z F, Gao J, et al. Analysis of metabolism during mung bean germination by $^1\text{H-NMR}$ combining with MCR-ALS with selectivity constraint[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(10): 3010-3014.
- [8] Zhou S, Sun L, Xing W, et al. Hyperspectral imaging of beet seed germination prediction[J]. Infrared Physics & Technology, 2020, 108: 103363.
- [9] 刘燕德, 徐振, 胡军, 等. 太赫兹光谱检测技术对农产品品质检测的研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(1): 0100005.
Liu Y D, Xu Z, Hu J, et al. Research on quality of agricultural products by terahertz spectroscopy[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(1): 0100005.
- [10] 焦俊, 圣阳, 王标, 等. 光谱技术在核桃检测领域的研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(22): 2200003.
Jiao J, Sheng Y, Wang B, et al. Research progress on spectroscopy in walnut detection[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(22): 2200003.
- [11] 朱亚, 赵永平, 王致和, 等. 盐胁迫对不同品种甜高粱种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 江西农业学报, 2017, 29(7): 9-13.
Zhu Y, Zhao Y P, Wang Z H, et al. Effects of salt stress on seed germination and seedling physiological characteristics of different sweet sorghum varieties[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2017, 29(7): 9-13.
- [12] 陈秀灵, 高玉军, 张东豪, 等. 桑树种子萌发耐盐性综合评价和配合力分析[J]. 种子, 2022, 41(4): 44-52.
Chen X L, Gao Y J, Zhang D H, et al. Comprehensive evaluation and analysis on combining ability of salt tolerance in mulberry during seed germination[J]. Seed, 2022, 41(4): 44-52.
- [13] Wu Q, Bai X, Wu X Y, et al. Transcriptome profiling identifies transcription factors and key homologs involved in seed dormancy and germination regulation of *Chenopodium quinoa*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 151: 443-456.
- [14] Bazile D, Jacobsen S E, Verniau A. The global expansion of quinoa: trends and limits[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 622.
- [15] 王妮妮. 混合盐碱胁迫对皂荚种子萌发的影响[J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(4): 14-18, 27.
Wang N N. Effect of mixed saline-alkali stress on seed germination of *gleditsia sinensis*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2017, 45(4): 14-18, 27.
- [16] Karunakaran C, Vijayan P, Stobbs J, et al. High

- throughput nutritional profiling of pea seeds using Fourier transform mid-infrared spectroscopy[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125585.
- [17] Divekar M T, Karunakaran C, Lahlali R, et al. Effect of microwave treatment on the cooking and macronutrient qualities of pulses[J]. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(2): 409-422.
- [18] 王晨, 谢岩黎, 南永远. 阿魏酸对小麦淀粉理化特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(18): 12-16, 21.
Wang C, Xie Y L, Nan Y Y. Effect of ferulic acid on physicochemical properties of wheat starch[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(18): 12-16, 21.
- [19] 赵永会, 史义静, 冯俊霞, 等. 面粉中蛋白质二级结构的红外光谱研究[J]. *光散射学报*, 2015, 27(1): 82-86.
Zhao Y H, Shi Y J, Feng J X, et al. Study on secondary structure of flour protein by infrared spectroscopy[J]. *The Journal of Light Scattering*, 2015, 27(1): 82-86.
- [20] Wiercigroch E, Szafraniec E, Czamara K, et al. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: a review[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, 185: 317-335.
- [21] 苏靖, 石晶红, 王金帅, 等. 基于红外光谱分析河套春小麦储藏期蛋白质二级结构变化[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(11): 24-27, 35.
Su J, Shi J H, Wang J S, et al. Changes in secondary structure of Hetao spring wheat protein under storage analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. *Cereals & Oils*, 2021, 34(11): 24-27, 35.