

# 农作物种子发芽时贮藏物质动员的红外光谱研究

刘刚<sup>1</sup>, 谭丽萍<sup>1</sup>, 董勤<sup>2</sup>

1. 云南师范大学物理与电子信息学院, 云南 昆明 650092  
2. 云南大学实验中心, 云南 昆明 650091

**摘要** 研究种子萌发时贮藏物质动员的一般方法是化学方法, 操作烦琐耗时。作者利用傅里叶变换红外光谱对豆类(大豆、蚕豆、豌豆)及禾谷类(稻谷、小麦、大麦)农作物种子发芽时贮藏物质动员情况进行了研究。结果表明, 豆类种子发芽前后在  $1\ 200 \sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  范围的光谱变化显著, 表明在发芽过程中糖类物质消耗较多; 禾谷类种子发芽前后蛋白质酰胺带的强度明显下降, 说明发芽过程中贮藏蛋白质被利用了; 另外, 禾谷类种子发芽后脂类特征峰强度也下降, 说明发芽过程中贮藏脂类也被动用了。红外光谱法在种子学研究方面具有快速、方便、不需对样品进行分离提取等特点。

**关键词** 农作物种子; 贮藏物质; 发芽; 傅里叶变换红外光谱

**中图分类号**: O657.3    **文献标识码**: A    **文章编号**: 1000-0593(2008)01-0080-04

## 引言

种子在植物学上是指由胚珠发育而成的繁殖器官。在农业生产上, 种子是最基本的生产资料, 凡是农业上可以直接用做播种材料的植物器官都称为种子<sup>[1]</sup>。农作物种子是人类赖以生存的粮食, 因而对种子的各种研究具有实际意义。种子是植物个体发育中的一个阶段, 种子的形成、休眠、萌发是一个奇异的历程。具有活力的种子, 通过休眠或解除休眠以后给予适当的萌发条件, 就能正常萌发<sup>[2]</sup>。种子的胚乳或子叶中贮存大量营养物质, 主要是碳水化合物、蛋白质和脂肪, 可供萌发之用。通常按种子贮藏物质的种类和含量将种子分为三大类: 一类是粉质种子如小麦、大麦、水稻、玉米等, 含淀粉较多, 含少量的蛋白质和脂肪, 是人类粮食的主要来源; 一类是蛋白质种子如大豆等; 另一类是油质种子, 如花生、油菜子等<sup>[1, 2]</sup>。另外, 根据作物的外部形态特征, 还将种子分为禾谷类、豆类、等等<sup>[1]</sup>。虽然对种子进行了长期研究, 取得了显著进展, 但种子的休眠机理、萌发机理还没有完全弄清楚<sup>[3-8]</sup>。研究种子萌发生理生化变化的常规方法为化学分析方法, 化学操作过程烦琐<sup>[9, 10]</sup>。因此, 有必要发展方便、快速的检测方法。振动光谱(红外光谱和拉曼光谱)技术正是满足这一需要的有力手段。

傅里叶变换红外光谱和激光拉曼光谱测量分子官能团的

振动模式具有指纹特性, 可以反映单一或混合体系样品的结构特征, 拉曼光谱和傅里叶变换红外光谱对分子结构、构象及所处的环境很敏感, 已成为探测生物材料中的大分子的结构及相互作用的有力手段<sup>[11, 12]</sup>, 振动光谱技术已用于农副产品分析<sup>[13-17]</sup>及农作物种子分析<sup>[18]</sup>, 而用于种子萌发过程研究, 尚未见报道。本文用傅里叶变换红外光谱学方法对发芽前后三种豆类种子(大豆、蚕豆、豌豆)及三种禾谷类种子(稻谷、小麦、大麦)贮藏物质的动员情况进行了初步研究, 取得了有意义的结果。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器设备和测试条件

BIO-RAD 公司 FTS-40 傅里叶变换红外光谱仪, 硅碳棒光源, MCT 探测器, 测量范围  $4\ 000 \sim 400\ \text{cm}^{-1}$ , 光谱分辨率  $4\ \text{cm}^{-1}$ , 信号扫描累加 16 次。

### 1.2 样品来源及制备

稻谷、小麦、大麦由云南省弥渡县农科站提供, 大豆、蚕豆、豌豆由云南省易门县农科站提供。先将水稻、蚕豆、豌豆、大豆种子用水浸种 24 h, 小麦、大麦浸种 12 h, 然后将种子移置于纸床上, 保持纸床水分充足 3~7 d, 当胚根和胚芽破皮长出即取样测试发芽后的光谱, 取样时避开胚部位, 豆类取子叶部位, 禾谷类取胚乳部位。

收稿日期: 2006-09-28, 修订日期: 2006-12-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(30360068)资助

作者简介: 刘刚, 1966年生, 云南师范大学物理与电子信息学院教授    e-mail: gliu66@163.com

## 2 结果与讨论

### 2.1 豆类作物发芽前后红外光谱比较

图 1a 为大豆的光谱图, 大豆在  $3\ 287$ ,  $2\ 927$ ,  $1\ 654$ ,  $1\ 543$ ,  $1\ 746\ \text{cm}^{-1}$  处显示强峰, 在  $2\ 855$ ,  $1\ 455$ ,  $1\ 398$ ,  $1\ 240$ ,  $1\ 158$ ,  $1\ 065\ \text{cm}^{-1}$  附近显示中等强度峰, 在  $3\ 010$  和  $2\ 957\ \text{cm}^{-1}$  显示弱峰或肩峰。 $3\ 287\ \text{cm}^{-1}$  归属为 NH 伸缩振动;  $2\ 957$ ,  $2\ 927$ ,  $2\ 855\ \text{cm}^{-1}$  分别归属为甲基反对称伸缩振动、亚甲基反对称伸缩振动及对称伸缩振动<sup>[19]</sup>;  $3\ 010\ \text{cm}^{-1}$  归属为  $=\text{CH}$  伸缩振动<sup>[19]</sup>, 可能来自不饱和和脂肪类物质;  $1\ 746\ \text{cm}^{-1}$  归属为脂类的  $\text{C}=\text{O}$  伸缩振动;  $1\ 654$ ,  $1\ 543$ ,  $1\ 240\ \text{cm}^{-1}$  归属为蛋白质的酰胺、酰胺、酰胺特征振动<sup>[19]</sup>,  $1\ 158$  和  $1\ 065\ \text{cm}^{-1}$  归属为糖类物质的  $\text{C}-\text{O}$  振动<sup>[11, 12]</sup>。红外光谱反映出大豆的主要成分为蛋白质和油脂类物质, 有少量碳水化合物。

图 1b 为大豆发芽后的光谱, 可以看出, 光谱峰位没有多少变化, 但在  $1\ 200 \sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  范围特征峰的强度有显著下降, 酰胺、酰胺峰的变化不明显。发芽前的吸收强度比  $A_{1\ 158}/A_{1\ 065}$  为  $0.930\ 8$ , 发芽后  $A_{1\ 160}/A_{1\ 077}$  增大为  $0.980\ 7$ , 说明发芽过程中糖类物质结构变化较大, 发芽前的吸收强度比  $A_{1\ 065}/A_{1\ 654}$  为  $0.680\ 4$ , 发芽后吸收强度比  $A_{1\ 077}/A_{1\ 650}$  减小为  $0.659\ 3$ , 说明发芽过程中糖类含量变小, 糖类物质被利用了。

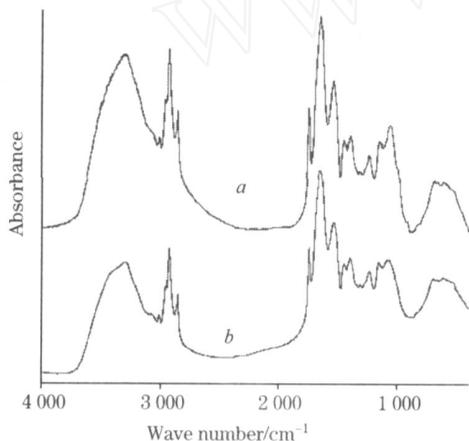


Fig 1 FTIR spectra of soybean seed a and germinating soybean seed b

图 2 为蚕豆的光谱图, 图 3 为豌豆的光谱图。蚕豆和豌豆的光谱非常相似, 在  $3\ 300\ \text{cm}^{-1}$  附近显示强宽峰; 在  $1\ 651$ ,  $1\ 156$ ,  $1\ 080$ ,  $1\ 055\ \text{cm}^{-1}$  显示强峰; 在  $2\ 928$ ,  $1\ 540$ ,  $1\ 453$ ,  $1\ 399$ ,  $1\ 241$ ,  $930$ ,  $858$ ,  $764\ \text{cm}^{-1}$  附近显示中等强度峰或弱峰。发芽前后光谱的明显变化发生在  $1\ 200 \sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  范围的多糖特征区, 发芽后这个范围特征峰强度下降了。蚕豆发芽前的吸收强度比  $A_{1\ 053}/A_{1\ 651}$ ,  $A_{1\ 081}/A_{1\ 651}$  分别为  $0.916\ 5$ ,  $0.900\ 2$ 。发芽后吸收强度比  $A_{1\ 054}/A_{1\ 649}$ ,  $A_{1\ 077}/A_{1\ 649}$  分别减小为  $0.898\ 6$  和  $0.881\ 3$ 。豌豆吸收强度比  $A_{1\ 050}/A_{1\ 652}$ ,  $A_{1\ 080}/A_{1\ 652}$ ,  $A_{1\ 157}/A_{1\ 652}$  分别由发芽前的  $0.966\ 9$ ,

$0.945\ 5$ ,  $0.837\ 7$  降为发芽后的  $0.810\ 9$ ,  $0.790\ 6$ ,  $0.704\ 4$ 。而蛋白质酰胺峰的变化不明显, 如豌豆酰胺峰与  $3\ 300\ \text{cm}^{-1}$  峰的吸收强度比  $A_{1\ 541}/A_{3\ 300}$  为  $0.895\ 8$ , 发芽后为  $0.897\ 9$ , 差异微小。

从以上讨论可以看出, 红外光谱反映出豆类种子发芽过程中子叶贮藏的糖类物质消耗较多。

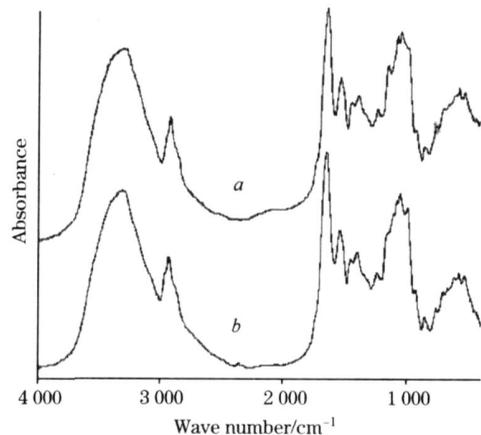


Fig 2 FTIR spectra of broad seed a and germinating broad seed b

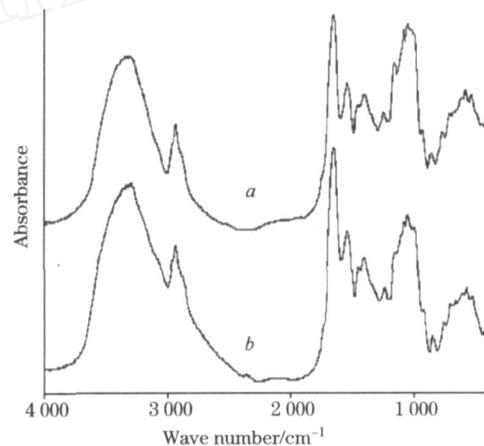


Fig 3 FTIR spectra of pea seed a and germinating pea seed b

### 2.2 禾谷类作物发芽前后光谱图比较

图 4 是稻谷、图 5 是小麦、图 6 是大麦发芽前后的傅里叶变换红外光谱, 三种禾谷类种子的光谱图非常相似。以  $3\ 390\ \text{cm}^{-1}$  为中心出现强宽峰, 归属为 OH 伸缩振动<sup>[19]</sup>, 在  $2\ 930$ ,  $1\ 654$ ,  $1\ 156$ ,  $1\ 081$ ,  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  附近表现为强吸收, 在  $1\ 743$ ,  $1\ 539$ ,  $1\ 455$ ,  $1\ 418$ ,  $1\ 370$ ,  $1\ 342$ ,  $1\ 240$ ,  $930$ ,  $860$ ,  $764\ \text{cm}^{-1}$  附近表现为弱峰,  $1\ 200 \sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  范围的强峰为糖类  $\text{C}-\text{O}$  键特征振动<sup>[11, 12]</sup>, 与 (图 7) 淀粉、纤维素的光谱对比可以看出, 三种种子都在  $930$  和  $859\ \text{cm}^{-1}$  处呈现明显弱峰, 与淀粉的峰一致, 一般将  $930$  和  $850\ \text{cm}^{-1}$  附近的弱峰归属为  $\alpha$ -型糖苷键的特征峰<sup>[11, 12, 19]</sup>, 表明禾谷类种子的主要成分为淀粉。与淀粉光谱对比, 可以看出三种禾谷类种子在  $1\ 650\ \text{cm}^{-1}$  附近峰的强度比淀粉的相应峰要强, 说明种子此峰除了淀粉的贡献外, 还有蛋白质的酰胺的贡献。

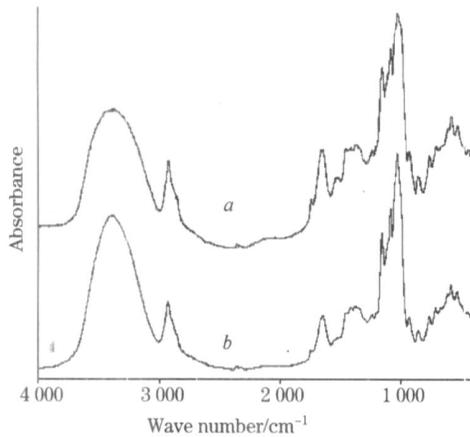


Fig 4 FTIR spectra of rice seed a and germinating rice seed b

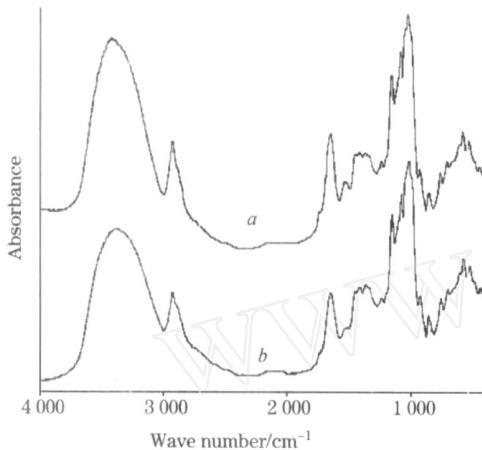


Fig 5 FTIR spectra of wheat seed a and germinating wheat seed b

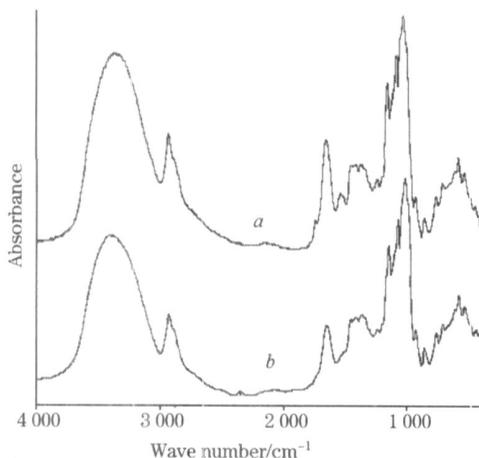


Fig 6 FTIR spectra of barley seed a and germinating barley seed b

稻谷发芽前后的红外光谱主要表现为  $1650\text{ cm}^{-1}$  附近峰的强度下降, 发芽前的吸收强度比  $A_{1653}/A_{1021}$ ,  $A_{1653}/A_{1082}$ ,  $A_{1241}/A_{1021}$ ,  $A_{1241}/A_{1082}$  分别为 0.559 8, 0.631 9, 0.551 2, 0.622 2。发芽后相应峰的比值降为 0.405 4,

0.507 1, 0.408 5, 0.511 0。另外  $1740$ ,  $1540$ ,  $1456\text{ cm}^{-1}$  处峰强度下降了; 糖类特征峰的变化不明显。

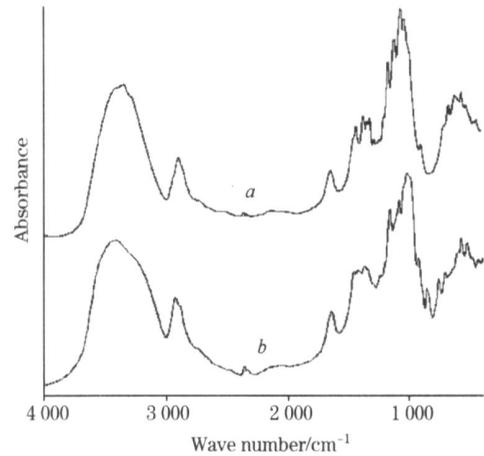


Fig 7 FTIR spectra of reference chemicals, a cellulose b starch

小麦相应峰的吸收强度比也表现出相同的规律,  $A_{1655}/A_{1022}$ ,  $A_{1655}/A_{1081}$ ,  $A_{1241}/A_{1022}$ ,  $A_{1241}/A_{1081}$  分别由发芽前的 0.619 5, 0.699 4, 0.528 5, 0.596 6 降为 0.538 6, 0.606 4, 0.523 3, 0.589 5。而对于吸收强度比  $A_{1539}/A_{1021}$  及  $A_{1539}/A_{1081}$ , 比值分别由发芽前的 0.647 1, 0.527 4 降为 0.414 5, 0.466 8。另外, 发芽后  $1741\text{ cm}^{-1}$  峰消失。

大麦发芽前的吸收强度比  $A_{1653}/A_{1022}$ ,  $A_{1653}/A_{1081}$ ,  $A_{1242}/A_{1022}$ ,  $A_{1242}/A_{1081}$  分别为 0.707 1, 0.778 9, 0.614 0, 0.676 5。发芽后相应峰的比值降为 0.470 1, 0.551 6, 0.458 0, 0.537 2。另外  $1743$  和  $1540\text{ cm}^{-1}$  峰消失,  $1456\text{ cm}^{-1}$  处峰强度下降了。

可以看出, 稻谷、小麦、大麦三种种子发芽前后的光谱变化有相同的规律:  $1650\text{ cm}^{-1}$  附近及  $1240\text{ cm}^{-1}$  附近的峰强度下降,  $1540\text{ cm}^{-1}$  处的峰变弱或消失,  $1455\text{ cm}^{-1}$  附近峰的相对强度也下降, 在  $1021$ ,  $1080$ ,  $1156\text{ cm}^{-1}$  附近的多糖峰变化不显著。光谱结果显示三种种子在发芽过程中消耗蛋白质较多,  $1740\text{ cm}^{-1}$  附近峰变弱或消失也说明, 种子发芽过程中脂类物质含量也发生了较大变化。

实际上, 种子在萌发过程中, 贮藏物质都有动员<sup>[9]</sup>, 本文的光谱结果只反映出部分变化, 关于用光谱方法研究种子生理变化有必要做进一步的工作。

### 3 结 论

利用傅里叶变换红外光谱方法研究了三种豆类种子(大豆、蚕豆、豌豆)和三种禾谷类种子(稻谷、小麦、大麦)发芽时贮藏物质的动员情况。红外光谱结果显示, 禾谷类种子在发芽过程中, 蛋白质发生了显著变化; 而豆类种子则是糖物质(淀粉)发生了明显变化。振动光谱在农作物研究方面具有方便、快速、取样少的优点, 所获得的信息可为种子学及作物生理学的研究提供参考。红外光谱在种子生理学、农业等方面具有诱人的应用潜力。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] YAN Qi-chuan(颜启传). Seed Science(种子学). Beijing : China Agricultural Press(北京: 中国农业出版社), 2002. 1.
- [ 2 ] FU Jia-rui(傅家瑞). Seed Physiology(种子生理). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1985. 1.
- [ 3 ] ZHANG Yong, XUE Lin-gui, GAO Tian-peng, et al(张 勇, 薛林贵, 高天鹏, 等). Journal of Desert Research(中国沙漠), 2005, 25(1): 106.
- [ 4 ] LI Rong, YE Yong(李 蓉, 叶 勇). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica(西北植物学报), 2005, 25(11): 2350.
- [ 5 ] TANG Zhi-an, LONG Chun-lin, DAO Zhi-ling(唐志安, 龙春林, 刀志灵). Acta Botanica Yunnanica(云南植物研究), 2004, 26(3): 241.
- [ 6 ] YANG Qi-he, YE Wan-hui, SONG Song-quan, et al(杨期和, 叶万辉, 宋松泉, 等). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica(西北植物学报), 2003, 23(5): 837.
- [ 7 ] SHI Xiao-hua, XU Ben-mei, LI Nian-lin, et al(史晓华, 徐本美, 黎念林, 等). Seed(种子), 2002, (5): 5.
- [ 8 ] YANG Wen-yu, GUAN Hua(杨文钰, 关 华). Seed(种子), 2002, (5): 31.
- [ 9 ] YANG Hong, WANG Suo-min(杨 红, 王锁民). Acta Botanica Borealis-Occidentalia Sinica(西北植物学报), 2002, 22(4): 851.
- [ 10 ] ZHAO Yu-jin, WANG Tai(赵玉锦, 王 台). Chinese Bulletin of Botany(植物学通报), 2001, 18(2): 226.
- [ 11 ] Synytsya A, Copikova J, Matejka P, et al. Carbohydrate Polymers, 2003, 54: 97.
- [ 12 ] Kacur ěkov ěM, Capek P, Sasinkov ěV, et al. Carbohydrate Polymers, 2000, 43(2): 195.
- [ 13 ] Demiate I M, Dupuy N, Huvenne J P, et al. Carbohydrate Polymers, 2000, 42(2): 149.
- [ 14 ] Prado B M, Kim S, Őzen B F, et al. J. Agric. Food Chem., 2005, 53(8): 2823.
- [ 15 ] Tewari J, Irudayaraj J. Agric. Food Chem., 2004, 52(11): 3237.
- [ 16 ] LIU Gang, LIU Jian-hong, YANG Ai-ming, et al(刘 刚, 刘剑虹, 杨爱明, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(8): 941.
- [ 17 ] LIU Gang, DONG Qin, YU Fan, et al(刘 刚, 董 勤, 俞 帆, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(3): 308.
- [ 18 ] ZHAO De-zhang, LIU Gang(赵德璋, 刘 刚). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(11): 159(增刊).
- [ 19 ] XIE Jing-xi, CHANG Jun-biao, WANG Xu-ming(谢晶曦, 常俊标, 王绪明). Application of Infrared Spectroscopy in Organic and Pharmic Chemistry(红外光谱在有机化学和药物化学中的应用). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2001.

## Infrared Spectroscopic Study on Storage Substance Mobilization of Crop Seeds in Germination

LIU Gang<sup>1</sup>, TAN Li-ping<sup>1</sup>, DONG Qin<sup>2</sup>

1. College of Physics and Electronic Information, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China

2. Center of Experiment, Yunnan University, Kunming 650092, China

**Abstract** The traditional method to study the storage substance mobilization of seeds during the process of germination is chemical extraction, which is troublesome and time consuming. In the present paper, Fourier transform infrared spectroscopy was used to study the storage substance mobilization of legume and cereal seeds in germination. The spectral results show that legume seeds (soybean, pea and broad bean) exhibit similar remarkable changes in the region from 1 000 to 1 200  $\text{cm}^{-1}$  in germination, which suggest that the storage carbohydrates in endosperm of legume seeds are mobilized during the process of germination. Notable changes were observed on amide bands of protein and lipid band in the spectra of germinating cereal seeds (rice, wheat and barley), indicating that storage proteins and lipids in cotyledon were utilized during the process of cereal seed germination. The results suggest that vibrational spectroscopy has the advantages of rapidness and convenience in the study of crop seeds and seed physiology.

**Keywords** Crop seed; Storage substance; Germination; Fourier transform infrared spectroscopy

(Received Sep. 28, 2006; accepted Dec. 29, 2006)