

美洲南瓜种皮发育相关物质含量变化研究

李文亮^{1,2}, 王有德^{1,2}, 陈扬^{1,2}, 马仁辉^{1,2}, 王梦霞^{1,2}, 李发康^{1,2}, 徐秉良^{1,2}, 薛应钰^{1,2}

(1. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃 兰州, 730070; 2. 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以美洲南瓜有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28 为试材, 研究了种皮发育过程中种皮鲜重、种皮干重、可溶性糖、淀粉、纤维素、半纤维素和酚类物质的变化规律, 结果表明: 种皮鲜重, 从授粉至种子成熟有壳美洲南瓜高于无壳美洲南瓜, 且均逐渐增加; 种皮干重, 有壳美洲南瓜随种子成熟逐渐增加, 无壳美洲南瓜种皮干重随种子成熟逐渐减少, 但从授粉开始至授粉 20 d 有壳美洲南瓜的种皮干重低于无壳美洲南瓜; 可溶性糖, 有壳美洲南瓜呈低-高-低趋势, 无壳美洲南瓜呈逐渐降低趋势, 且总体上有壳美洲南瓜高于无壳美洲南瓜; 淀粉含量波动较大, 总体基本呈降低趋势, 而且无壳美洲南瓜低于有壳美洲南瓜; 纤维素含量无壳美洲南瓜低于有壳美洲南瓜, 从授粉开始至授粉 20 d 均呈降低趋势, 但授粉 20 d 至种子成熟, 有壳美洲南瓜逐渐增加, 而无壳美洲南瓜则逐渐降低; 半纤维素和酚类物质的变化趋势相似, 即有壳美洲南瓜高于无壳美洲南瓜, 而且从授粉开始至授粉 20 d 均呈增加趋势, 授粉 20 d 至种子成熟, 有壳美洲南瓜持续增加, 而无壳美洲南瓜则逐渐降低, 接近于 0。

关键词: 美洲南瓜; 种皮发育; 相关物质; 含量

中图分类号: S642.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2020)02-0015-06

[doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2020.02.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2020.02.005)

裸仁南瓜(*Cucurbita pepo* L.)是自然界一种罕见的南瓜突变类型, 最早在 19 世纪后

收稿日期:

基金项目: 国家自然科学基金(31760577、30671267); 甘肃省自然科学基金项目(145RJZA095); 甘肃农业大学学生科研训练计划项目(201913017)。

作者简介: 李文亮(1995—), 男, 甘肃榆中人, 本科在读, 研究方向为植物病害生物防治。联系电话: (0931)7632161。Email: 1475703746@qq.com。

通信作者: 薛应钰(1978—), 男, 甘肃镇原人, 副教授, 主要从事植物病害生物防治研究工作。联系电话: (0931)7632161。Email: xueyy@gsau.edu.cn。

技, 2017(11): 28-30.

- [3] 刘学周, 康天兰. 当归栽培新技术研究综述[J]. 甘肃农业科技, 2016(11): 62-66.
- [4] 汪淑霞, 宋振华, 王富胜. 5 个当归新品种在高寒阴湿区的适应性研究[J]. 甘肃农业科技, 2016(10): 28-31.
- [5] 邓永健, 郭志伟, 王萌. 当归的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 新疆中医药, 2006, 24(5): 109-113.
- [6] 蔺海明, 陈健, 武延安. 西北地区中药材种植与加工技术研究[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2006.
- [7] 刘效瑞, 王富胜, 刘荣清, 等. 旱农区主要粮经作物规范化生产技术研究与应用[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2014.
- [8] 朱田田. 甘肃道地中药材实用栽培技术[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2016.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [10] 唐启义. DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [11] 姚宗凡. 常用中药种植技术[M]. 北京: 金盾出版社, 1989: 41-48.
- [12] 米永伟, 龚成文, 谢志军, 等. 一年生当归直播种植技术规程[J]. 甘肃农业科技, 2018(12): 88-90.

(本文责编: 陈伟)

期发现^[1-2]。因其瓜子无壳,食用方便,种子含有大量的脂肪、蛋白质、碳水化合物及硒、钙、锌、镁、磷、铁、钠等 8 种主要的微量元素,维生素 C、维生素 F、维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 H 等多种维生素和 8 种人体必需的氨基酸,营养丰富而享誉国内外市场,成为我国的一种稀有产品^[3]。

植物种皮来源于胚珠的珠被。据植物科研生产和我们的前期研究,美洲南瓜种皮主要由 5 层构成,即由外到里依次为表皮层、下皮层、厚壁组织层、软组织层和绿色组织层^[4]。关于植物种皮合成过程中物质的变化主要集中在对种皮色素形成相关物质的研究,李晓敏等^[5]对种子种皮色素进行了分离及种类鉴定,发现甘蓝型黑籽油菜和黄籽油菜种皮中均含有花色素、大量黄酮醇、少量的异黄酮昔及黄酮醇昔。拟南芥种皮的成色物质主要为类黄酮类化合物,其中黄酮醇和原花色素积累于种皮中,是种皮色素的主要类型^[6]。但是对于种皮发育过程中种皮形成甚至种皮缺失与相关物质含量的变化研究甚少。

我们以武威金苹果有限责任公司育成的美洲南瓜有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28 为试材,研究其种皮发育过程中,种皮鲜重、干重、可溶性糖、淀粉、纤维素、半纤维素和酚类物质的变化规律,寻找 2 个品种种皮产生差异的某些原因,以期为调控种皮发育和进行裸仁南瓜的选育提供参考。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

2008 年 4 月 30 日在武威金苹果有限责任公司试验基地播种美洲南瓜有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28,于 7 月上旬即开花盛期进行严格自交授粉,每个品种至少授粉 10 株,并挂牌标记,分别于授粉后 10、15、20、25、30、35、40、45、

50 d,采集种皮 1 g,每个组织共 20 g,用锡箔纸包好置于液氮管中带回实验室保存于 -80 ℃冰柜中。

1.2 试验方法

1.2.1 种皮鲜重和干重测定 采用烘干称重法^[7]。从授粉至种子成熟共采集种皮 10 次,每次采集有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28 的种子各 10 粒,带回室内洗净晾干,称量鲜重;将种皮风干后于 80 ℃温度下烘干至恒重测定其干重。

1.2.2 可溶性总糖含量和淀粉含量测定 采用蒽酮比色法测种皮可溶性糖及淀粉的含量,绘制葡萄糖含量与光密度的标准曲线^[8]。测出溶液光密度值后,依标准曲线求出葡萄糖含量,再由以下公式分别计算出可溶性糖含量及淀粉含量。

$$W_1 = [(c \times 10/a) \times V_1/b] \times 100\%$$

$$W_2 = [(c \times V_2/a) \times 0.9] / m \times 100\%$$

式中 W_1 为可溶性糖含量, W_2 为淀粉含量; c ($\mu\text{g}/\text{管}$)为查标准曲线所得葡萄糖含量; a (mL)为显色时所取样品量; b (mL)为除色素时吸取提取液的量; V_1 (mL)为样品中可溶性糖提取液的量; m (g)为样品干重; 10(mL)为除色素时可溶性糖的溶解体积; V_2 (mL)为样品中淀粉水解液总体积; 0.9 为葡萄糖换算为淀粉的系数。

1.2.3 纤维素含量测定 采用 72%浓硫酸水解法测定种皮纤维素含量^[9]。称取 0.5~1.0 g 种皮置于试管中,加入 5 mL 醋酸和硝酸混合液,盖上球形玻盖,置沸水浴中加热 25 min,并不断搅拌;取出、冷却后离心,弃去上清液,沉淀用蒸馏水冲洗 3 次;向沉淀中加入 10 mL 质量分数 10%的硫酸和 10 mL 0.1 mol/L 的重铬酸钾溶液,摇匀,浸入沸水浴中 10 min,取出后倒入三角瓶中,用适量蒸馏水冲洗试管 3 次,一并倒入三角瓶中;溶液冷却后加 5 mL 质量分数 20% KI 溶液和 1 mL 质量分数 0.5%的淀粉溶液,用

0.2 mol/L 硫代硫酸钠滴定(碘量法), 另外单独滴定加入了 10 mL 质量分数 10% 硫酸的 0.1 mol/L 的重铬酸钾溶液 10 mL 作为空白样。纤维素含量按公式: $X=K(a-b)/(n \times 24)$ 计算, 式中 X 为纤维素含量, “24”为 1 mol $C_6H_{10}O_5$ 相当于硫代硫酸钠的当量数; K 为硫代硫酸钠浓度(mol/L); a 为空白滴定所耗硫代硫酸钠体积(mL); b 为溶液所耗硫代硫酸钠体积(mL); n 为种皮质量(g)。

1.2.4 半纤维素含量测定 采用铜碘法。称取自然风干的种皮粉末 0.5 ~ 1.0 g, 数值为 n ; 装入小烧杯中, 加入 15 mL 80% 的硝酸钙溶液, 盖好加热至沸腾, 在慢慢沸腾的情况下加热 5 min 分步离心, 分别用 10 mL 热水洗涤沉淀 3 次, 在沉淀中加入 10 mL 2 mol/L 的盐酸, 搅匀, 沸水浴中搅拌情况下煮沸 45 min, 离心, 残渣分别用 10 mL 蒸馏水冲洗 3 次, 冲洗后的水溶液合并离心液中, 加入 1 滴酚酞, 用 2 mol/L 氢氧化钠溶液中和到显橙红色, 转入 100 mL 的容量瓶, 稀释到刻度, 用干燥滤纸过滤到干燥烧杯中, 移液管吸取 10 mL 滤液, 加入 10 mL 碱性铜试剂, 盖好在沸水中煮 15 min, 冷却, 加入 5 mL 草酸 - 硫酸混合液, 加入 0.5 mL 0.5% 淀粉, 用 0.01 mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定至蓝色消失, 用去 b mL; 取 10 mL 碱性铜试剂, 加 5 mL 草酸 - 硫酸混合液, 再加 10 mL 滤液, 加入 0.5 mL 0.5% 的淀粉, 0.01 mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定至蓝色消失, 用去 a mL。种皮中半纤维素的含量计算公式: $x\%=0.9 \times 100[248-(a-b)](a-b)/10\,000 \times 10 \times n$, 式中 x 为半纤维素含量, 0.9 为还原糖与半纤维素换算系数。

1.2.5 酚类物质含量测定 参照 Rodrigues 等^[10]的方法。取 1.0 g 冷冻种皮到 Ependorf 管中, 加入 1.5 mL 的 80% 甲醇, 用铝箔包裹 Ependorf 管, 防止光氧化, 在 25 °C 下, 用 150 r/min 振荡过夜。提取物在 12 000 转/g

离心 5 min, 上清液转移到新的 Ependorf 管中, 在 -20 °C 下保存。取上清液(甲醇提取物)150 μ L, 加入 0.25 mol/L 的 Folin- 酚试剂 150 μ L, 摇匀, 室温下保持 5 min。接着加入 150 μ L 的 1 mol/L Na_2CO_3 溶液, 摇匀, 在室温下保持 10 min。向混合物加入 1 mL 双蒸水, 摇匀。室温下保持 1 h。混合物在 725 nm 下比色, 测定吸光度。用邻苯二酚做标准, 单位为 mg/g。

2 结果与分析

2.1 种皮鲜重和干重

种皮鲜重测定结果表明, 有壳品种 04LAg-26-2 随着种子的成熟, 种皮增厚, 鲜重增加; 而无壳品种 04LAg-26-28 的种皮随种子成熟, 种皮鲜重呈下降趋势。干重测定结果表明, 在授粉 20 d 前, 无壳品种 04LAg-26-28 的干重高于有壳品种 04LAg-26-2; 20 d 后, 有壳品种 04LAg-26-2 种皮干重逐渐升高, 而无壳品种 04LAg-26-28 呈降低趋势(图 1、图 2)。

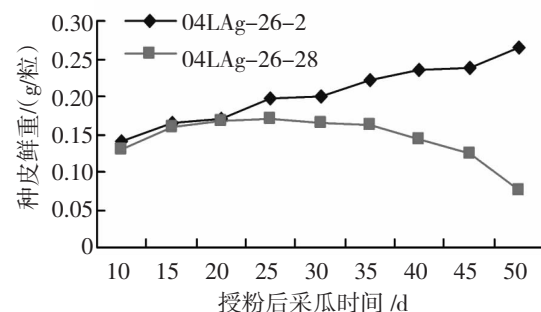


图 1 授粉后不同时间美洲南瓜种皮鲜重变化

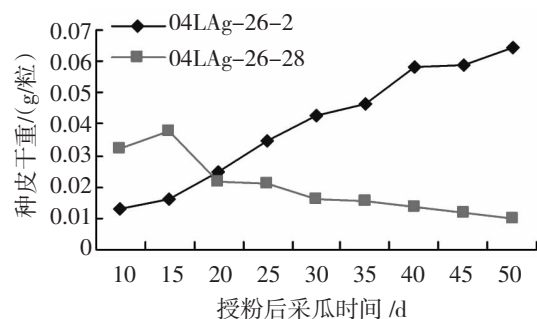


图 2 授粉后不同时间美洲南瓜种皮干重变化

2.2 可溶性总糖含量

参照葡萄糖含量标准曲线(图3), 从图 4

可以看出,有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28 中可溶性糖含量存在明显差异,在种子发育过程中,无壳品种 04LA_g-26-28 中可溶性糖含量明显低于有壳品种 04LA_g-26-2,而且变化幅度较小,比较平稳。有壳品种 04LA_g-26-2 中可溶性糖含量变化幅度较大。

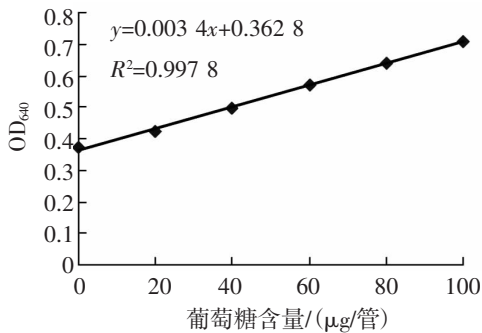


图3 葡萄糖标准曲线

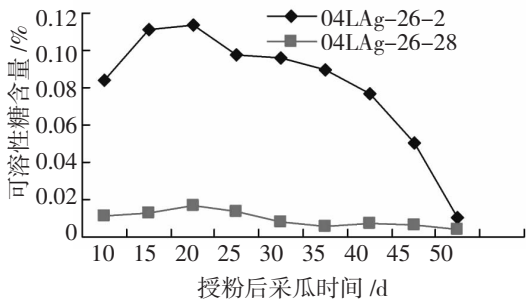


图4 授粉后不同时间美洲南瓜种皮中可溶性糖含量

2.3 淀粉含量

参照淀粉含量标准曲线(图5),从图6可以看出,有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28 中淀粉含量差异较大。无壳品种 04LA_g-26-28 中淀粉含量总体低于有壳品种,变化幅度较大,呈现高一低—

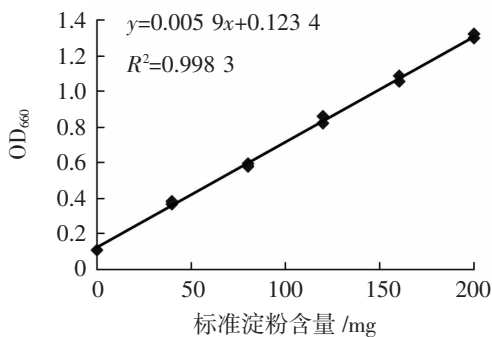


图5 淀粉标准曲线

高一低趋势,而有壳品种 04LA_g-26-2 中淀粉含量随种子的成熟呈降低趋势。

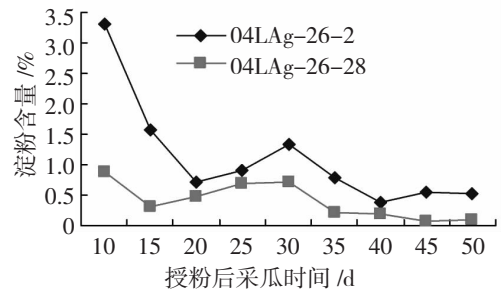


图6 授粉后不同时间美洲南瓜种皮中淀粉含量变化

2.4 半纤维素含量

从图7可以看出,美洲南瓜有壳品种 04LA_g-26-2 和无壳品种 04LA_g-26-28 种皮中半纤维素含量存在明显差异。有壳品种 04LA_g-26-2 授粉后,随着种子的成熟,半纤维素逐渐增加,直至 50 d 种子成熟时,含量达到最大值(3.024%)。而无壳品种 04LA_g-26-28 种皮中半纤维素含量总体呈先增加后降低的趋势,即授粉后 20 d 前,其含量和有壳品种 04LA_g-26-2 含量接近,20 d 后,随着种子的成熟,半纤维素含量逐渐降低,直至种子成熟时,含量仅为 0.157%。

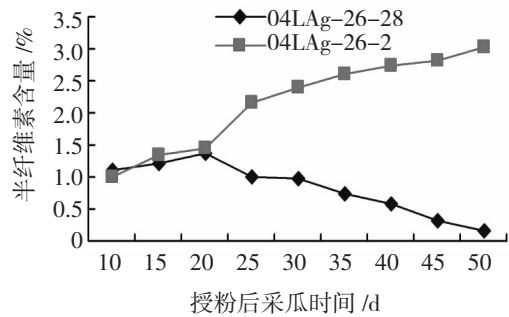


图7 半纤维素含量变化

2.5 纤维素含量

纤维素含量测定结果(图8)表明,美洲南瓜有壳品种 04LA_g-26-2 种皮纤维素含量均高于无壳品种 04LA_g-26-28,随着种子的成熟呈高一低—高变化趋势,即从授粉开始至授粉 20 d 纤维素含量逐渐降低,授粉 20 d 后,随着种子的成熟,纤维素含量逐渐增加;而无壳品种 04LA_g-26-28 总体上基

本呈降低趋势,即从授粉开始至授粉20 d,变化趋势与有壳品种04LA_g-26-2相同,但含量低于有壳品种04LA_g-26-2,授粉20 d后至种子成熟,纤维素含量持续下降,种子成熟时(授粉后50 d)含量为0.03%。

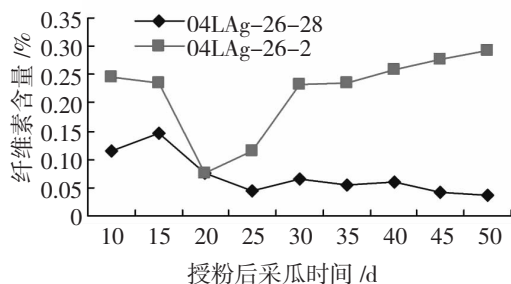


图8 授粉后不同时间美洲南瓜种皮中纤维素含量变化

2.6 酚类物质含量

如图9所示,美洲南瓜有壳品种04LA_g-26-2和无壳品种04LA_g-26-28种皮中酚类物质含量变化差异较大,其总体变化趋势和半纤维素相似。即有壳品种04LA_g-26-2授粉后,随着种子的成熟,酚类物质含量逐渐增加,直至50 d种子成熟时,含量达到最大值。而无壳品种04LA_g-26-28种皮中酚类物质含量总体呈先增加后降低的趋势,即授粉后20 d前,其含量和有壳品种04LA_g-26-2含量接近,20 d后,随着种子的成熟,酚类物质含量逐渐降低,直至种子成熟时,含量仅为0.313 9 mg/g。

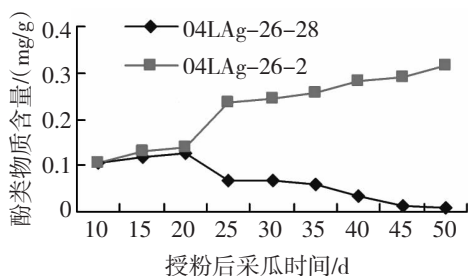


图9 授粉后不同时间美洲南瓜种皮中酚类物质含量变化

3 结论与讨论

从授粉至种子成熟,有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2种皮鲜重高于无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28,且逐渐增加,而对于种皮

干重来说,有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2的种皮干重随种子成熟逐渐增加,无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28种皮干重随种子成熟逐渐减少,但是,从授粉开始至授粉20 d有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2的种皮干重低于无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28。有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2种皮中可溶性糖呈低—高—低趋势,无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28可溶性糖呈逐渐降低趋势,且总体上有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2高于无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28;淀粉含量波动较大,总体基本呈降低趋势,而且无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28低于有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2;纤维素含量无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28低于有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2,从授粉开始至授粉20 d均呈降低趋势,但授粉20 d至种子成熟,有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2逐渐增加,而无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28则逐渐降低;半纤维素和酚类物质的变化趋势相似,即有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2高于无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28,而且从授粉开始至授粉20 d均呈增加趋势,授粉20 d至种子成熟,有壳美洲南瓜品种04LA_g-26-2持续增加,而无壳美洲南瓜品种04LA_g-26-28则逐渐降低,接近于0。

可溶性糖含量的高低,反映了植株体内可利用态物质和能量的供应基础^[11]。糖的大量积累对初生壁的形成和木质素的沉积及纤维素和半纤维素的形成是至关重要的^[12]。试验结果表明,美洲南瓜无壳品种04LA_g-26-28中可溶性糖含量低于有壳品种中可溶性糖含量,而且美洲南瓜有壳品种04LA_g-26-2和无壳品种04LA_g-26-28在授粉后20 d可溶性糖含量达到最高值,此后持续下降,至种子成熟时,含量接近于0,这说明糖的积累阶段,为种皮的正常分裂分化和后期木素沉积提供前体物质基础。

纤维素、半纤维素是次生木质部细胞壁的主要成分。纤维素是构成细胞壁的主要成分,单位体积纤维素含量的多少直接关系到机械组织是否发达^[13]。我们通过对无壳美洲南瓜品种 04LAg-26-2 和有壳美洲南瓜品种 04LAg-26-28 中纤维素含量比较发现,有壳美洲南瓜品种 04LAg-26-2 随种子的成熟,种皮加厚,种皮中纤维素含量持续增加,而无壳美洲南瓜品种 04LAg-26-28 随种子的成熟,种皮退化,纤维素含量显著降低。

酚类物质是合成木质素的前体,其含量和种类对木质素合成有重要影响,酚类物质自身的氧化交联和形成的二聚体也可使细胞壁增厚,促进植物组织木质化^[14]。初生细胞壁酚类物质的累积,促使细胞壁硬化,高等植物细胞次生壁中酚类物质的大量积累提高了细胞壁硬度,阻止了细胞壁延伸,由此可见酚类物质的积累可能在植物细胞壁的停止伸长后在细胞壁硬化中起着一定的作用^[11]。我们的试验证明,随着种子的成熟,有壳美洲南瓜种皮品种 04LAg-26-2 中的酚类物质含量持续增加,无壳美洲南瓜品种 04LAg-26-28 种皮中的酚类物质含量逐渐减少,而且有壳美洲南瓜品种 04LAg-26-2 种皮中的酚类物质高于无壳美洲南瓜品种 04LAg-26-28 种皮中的酚类物质,这与万政敏等^[15]对核桃仁种皮中的多酚类物质的研究结果相一致。

参考文献:

- [1] 刘佳,徐秉良,薛应钰,等.美洲南瓜(*Cucurbita pepo*)种皮苯丙氨酸解氨酶基因克隆与表达分析[J].中国农业科学,2014,47(6):1216-1226.
- [2] 薛应钰,师桂英,徐秉良,等.裸仁美洲南瓜种皮性状遗传规律研究[J].草业学报,2011,20(3):205-210.
- [3] 张仲保.无壳西葫芦某些性状遗传规律的研究[J].西北农业学报,2004(3):93-96.
- [4] 王恒炜.从文献分析看我国籽瓜科研生产的方向[J].甘肃农业科技,2019(6):62-72.
- [5] 唐晓敏,程轩轩,张春荣,等.贮藏期间广金钱草种子种皮色素含量及相关酶的变化[J].时珍国医国药,2017,28(12):3003-3005.
- [6] 赵宝颀,杜世坤,赵振宁,等.大豆新品种银豆2号选育报告[J].甘肃农业科技,2019(2):14-16.
- [7] 杜敏晴,伍仁军,杨民烽,等.烘干称重法与TDR法观测土壤湿度的比较研究[J].水土保持应用技术,2018(4):7-9.
- [8] 李文砚,韦持章,孔方南,等.萘酚法测定木奶果果实中可溶性糖含量的研究[J].中国园艺文摘,2015,31(12):7-8;28.
- [9] 刘建乐,白昌军,严琳玲,等.割手密硫酸水解糖化的研究[J].广东农业科学,2015,42(2):82-88.
- [10] BEIGZADEH A M, VAZIRI M R R, SOLTANI Z, et al. Design and improvement of a simple and easy-to-use gammaray densitometer for application in wood industry[J]. Measurement, 2019, 138: 157-161.
- [11] 鲜小林,陈睿.温度与光强对高山杜鹃催花期间花芽营养物质积累的影响[J].西北植物学报,2015,35(5):991-997.
- [12] 叶正文,李雄伟,马亚萍,等.桃果实糖代谢研究进展[J].上海农业学报,2019,35(4):144-150.
- [13] 黄文辉,王会,梅德圣.农作物抗倒性研究进展[J].作物杂志,2018(4):13-19.
- [14] 汤崑,王洁,张文颖,等.木质素在果树果核退化的作用[J].分子植物育种,2018,16(11):3752-3762.
- [15] DEVELIOGLU I, PULAT H F. Improvement of shear strength characteristics of izmir Bay's dredged soil[J]. Arabian Journal of Geosciences, 2019, 12(20): 1-12.

(本文责编:郑立龙)