# 外源一氧化氮对干旱胁迫下白花蛇舌草种子萌发的影响

朱再标，宁梓君，郭巧生*，曹亚悦
南京农业大学 中药材研究所，江苏 南京 210095

**摘 要：目的** 探索外源一氧化氮（NO）对干旱胁迫下白花蛇舌草 *Oldenlandia diffusa* 种子萌发的影响，并确定缓解干旱胁迫的硝普钠（SNP，NO 外源供体）最适浓度。**方法** 用 15% PEG 6000 模拟干旱胁迫，测定不同浓度梯度 SNP 处理后干旱胁迫下白花蛇舌草种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数。**结果** 干旱胁迫显著抑制了白花蛇舌草种子的萌发过程。SNP 能显著促进干旱胁迫下白花蛇舌草种子的萌发，0.3 mmol/L SNP 处理可提高发芽率和活力指数 2.78 倍和 7.77 倍；从发芽势和发芽指数来看，0.1 mmol/L 和 0.3 mmol/L SNP 处理效果最佳且二者差异不显著。**结论** SNP 可显著缓解干旱胁迫对白花蛇舌草种子萌发的不利影响，提高白花蛇舌草种子的抗旱能力，其中以 0.3 mmol/L SNP 效果最佳。

**关键词：**白花蛇舌草；种子萌发；干旱胁迫；一氧化氮；硝普钠
**中图分类号：**R282.21 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2014)06 - 0840 - 04
**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.06.019

# Effect of exogenous nitric oxide on seed germination of *Oldenlandia diffusa* under drought stress

ZHU Zai-biao, NING Zi-jun, GUO Qiao-sheng, CAO Ya-yue
Institute of Medicinal Plants, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

**Abstract: Objective** To explore the effect of exogenous nitric oxide (NO) on seed germination of *Oldenlandia diffusa* under drought stress and to determine the optimal concentration of sodium nitroprusside (SNP, exterior nitric oxide donor) for alleviating the drought stress. **Methods** Using 15% PEG6000 to imitate drought stress, the germination potential, germination rate, germination index, and vigor index of *O. diffusa* seeds were measured by the treatment of SNP at different concentration. **Results** The germination process of *O. diffusa* seeds was significantly suppressed by drought stress. SNP could significantly promote the germination of *O. diffusa* seeds under drought stress. SNP (0.3 mmol/L) increased the germination rate and germination potential by 2.78- and 7.77-folds, respectively. In the case of germination index and vigor index, SNP (0.1 and 0.3 mmol/L ) showed the maximum positive impact and there was no significant difference between the two SNP concentration treatments. **Conclusion** SNP could alleviate the negative influence of drought stress on the germination process of *O. diffusa* seeds and improve the drought-resistant activity. Among all the treatments, the concentration of SNP at 0.3 mmol/L leads to the maximum germination rate.

**Key words:** *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb.; seed germination; drought stress; nitric oxide; sodium nitroprusside

白花蛇舌草 *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb. 为茜草科一年生草本植物，以全草入药。药材名白花蛇舌草，其主要功效是清热解毒、活血消肿、止痛抗菌等[1]，近年来白花蛇舌草广泛地被用于治疗各种癌症[2]。白花蛇舌草被《中国药典》作为成药原料药收载，每年需求量较大，仅靠野生收购已不能满足供应[3]。近年河南、江苏和江西等地已开展了白花蛇舌草野生转人工栽培工作。在大田生产实践中发现出苗期土壤干旱严重影响白花蛇舌草出苗率及其以后的生长。

近年来在白花蛇舌草的化学成分分析与测定、药理作用、栽培及繁育方面有较多报道[2]，也进行了种子检验规程[4]、种子质量分级标准[5]、种子萌发特性[6]等方面的研究，但关于其外源一氧化氮（NO）

**收稿日期：**2013-09-14
**基金项目：**国家科技重大专项（2009ZX09308-002，2012ZX09304006）
**作者简介：**朱再标，副教授，硕士生导师，研究方向为药用植物生长和次生代谢调控及其机制。Tel: (025)84396591 E-mail: zhuzaibiao@njau.edu.cn
***通信作者** 郭巧生 Tel: (025)84396591 E-mail: gqs@njau.edu.cn

处理种子方面的研究鲜见报道。因此，本研究以白花蛇舌草种子为材料，研究外源 NO 对干旱胁迫下白花蛇舌草种子萌发的影响并探索减轻其干旱胁迫伤害的最适硝普钠（SNP）浓度，以期为提高白花蛇舌草出苗期的抗旱性，促进其规范化栽培提供依据。

## 1 材料与试剂

供试材料于 2010 年 10 月采集于河南省确山县竹沟乡（东经 113.31°，北纬 32.96°，海拔 89 m），经南京农业大学中药材研究所郭巧生教授鉴定为白花蛇舌草 *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb. 种子。NO 供体硝普钠（亚硝基铁氰化钠，sodium nitroprusside，SNP）与聚乙二醇（PEG 6000）购自广东光华科技股份有限公司。

## 2 方法

### 2.1 种子处理

选取整齐一致、籽粒饱满且无病虫害的种子，以流水冲洗 2 h 后，吸干种子表面水分，整齐排在铺有两层滤纸的培养皿内进行发芽实验。实验采用 15% PEG6000 模拟干旱胁迫，以 25 ℃配合 8 000 lx 光照（光照 8 h，黑暗 16 h）为培养条件。采用 7 个处理，分别编号为 CK（清水），P（15% PEG 6000），S（0.1 mmol/L SNP），A1（15% PEG 6000＋0.1 mmol/L SNP），A2（15% PEG 6000＋0.3 mmol/L SNP），A3（15% PEG 6000＋0.5 mmol/L SNP），A4（15% PEG 6000＋0.7 mmol/L SNP）。设 4 个重复，每个重复 100 粒种子。

每天分别用上述 7 种处理液喷洒种子或幼苗，以浸透底层滤纸为度，喷洒后吸出多余处理液，以免种子被处理液掩埋而影响萌发。SNP 溶液配成 1 mmol/L 母液，用时稀释，每 2 天更换 1 次母液。

### 2.2 指标测定

萌发处理后 1～17 d 以胚根与种子等长为指标，统计发芽种子数。第 5 天测定发芽势，第 17 天测定苗长、发芽率、发芽指数和活力指数。

发芽率＝发芽终期全部正常发芽的种子数 / 供试种子数

发芽势＝规定天数内发芽的种子粒数 / 供试种子数

发芽指数＝$\sum(G_t/D_t)$

活力指数＝发芽指数×苗长

其中 $G_t$ 为 $t$ 天的发芽数，$D_t$ 为发芽天数

### 2.3 数据处理

所有数据均取 4 次重复平均值，采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行数据分析及差异显著性检验。

## 3 结果与分析

### 3.1 SNP 对干旱胁迫下白花蛇舌草种子的发芽率和发芽势的影响

各处理的白花蛇舌草种子的发芽趋势基本一致。白花蛇舌草种子从第 3 天开始发芽，发芽 9 d 后种子发芽速度明显降低并趋于平缓，15 d 后白花蛇舌草种子基本停止发芽（图 1）。

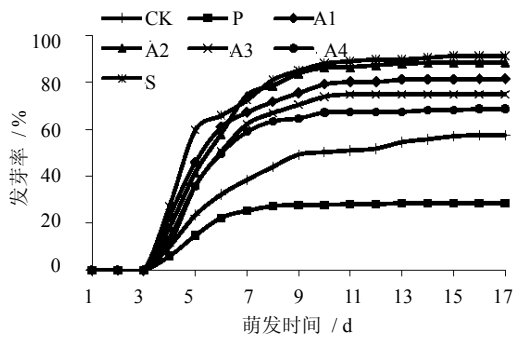
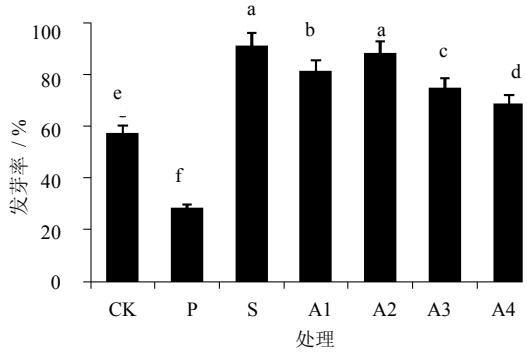



**图 1 不同处理白花蛇舌草种子的发芽趋势**

**Fig. 1 Germination potential of *O. diffusa* seeds by SNP at different concentration**

干旱胁迫显著降低了白花蛇舌草种子的发芽率和发芽势（$P<0.05$）。与 CK 相比，P 处理种子发芽率降低了 29%，发芽势降低了 4.5%。干旱胁迫条件下加入 SNP 可显著促进干旱胁迫下白花蛇舌草种子的萌发，其中 A2 处理发芽率和发芽势分别比 P 处理提高 278.26%和 225.00%，并且显著高于 CK。不同浓度梯度 SNP 处理之间，种子的发芽率差异显著，其中 A2 处理的发芽率显著高于其他干旱胁迫处理种子的发芽率（图 2），而干旱胁迫下不同浓度梯度的 SNP 处理间的发芽势无显著差异（图 3）。




不同字母代表在 5%水平上差异显著，下同

Different letters mean significant differences at 5% level, same as below

**图 2 不同浓度 SNP 对白花蛇舌草种子发芽率的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 4$）**

**Fig. 2 Effect of SNP at different concentration on germination rate of *O. diffusa* seeds ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

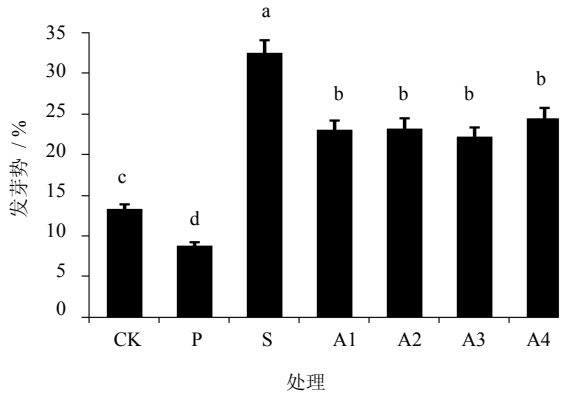



**图 3 不同浓度 SNP 对白花蛇舌草种子发芽势的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

**Fig. 3 Effect of SNP at different concentration on germination potential of *O. diffusa* seeds ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

### 3.2 SNP 对干旱胁迫下白花蛇舌草种子的发芽指数和活力指数的影响

干旱胁迫显著减低白花蛇舌草种子的发芽指数（图 4）和活力指数（图 5），各处理发芽指数和活力指数的变化趋势类似于发芽率和发芽势。经过 SNP 处理后种子的发芽指数和活力指数显著高于 CK 和 P 处理。其中在干旱胁迫条件下，A1 和 A2 处理，发芽指数无显著差异，均显著高于干旱胁迫下其他 SNP 处理组（图 4）。A2 处理的白花蛇舌草种子活力指数显著高于其他干旱处理的种子（图 5）。A2 处理比 P 处理的发芽指数和活力指数分别提高 278.57%和 777.46%。

## 4 讨论

干旱胁迫显著抑制白花蛇舌草种子的萌发，而 SNP 可显著缓解干旱胁迫对白花蛇舌草种子萌发的

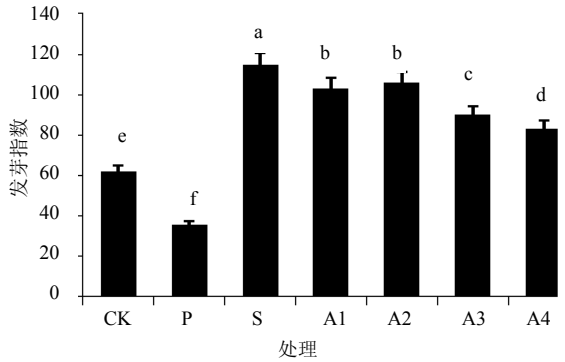



**图 4 不同浓度 SNP 对白花蛇舌草种子发芽指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

**Fig. 4 Effect of SNP at different concentration on germination index of *O. diffusa* seeds ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

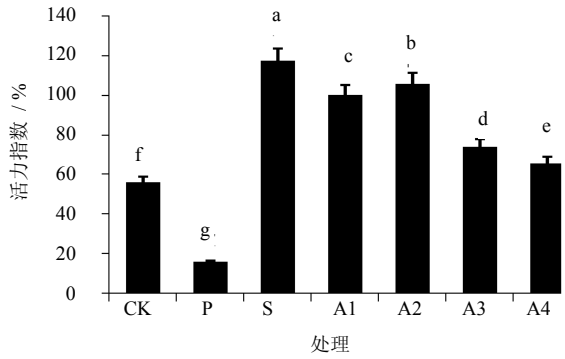



**图 5 不同浓度 SNP 对白花蛇舌草种子活力指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

**Fig. 5 Effect of SNP at different concentration on vigor index of *O. diffusa* seeds ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)**

不利影响，提高白花蛇舌草种子的抗旱能力，其中以 0.3 mmol/L SNP 效果最佳。

种子萌发是作物整个生长周期中生理代谢最旺盛的阶段，也是容易受到不良环境刺激的最敏感时期，强度较轻的逆境就会使种子活力受到严重的影响。NO 与植物非生物胁迫的关系是植物界目前研究的热点之一。适宜浓度的 NO 可以减轻盐害、干旱、低温、臭氧和紫外线照射等对植物细胞的伤害[7]。NO 可以广泛参与植物各种生理过程的调节，尤其在植物生长发育及其对逆境的响应等方面起着重要的调节作用[8-9]。如 NO 供体 SNP 通过提高种子的吸胀能力促进小麦种子在渗透胁迫下萌发，还能明显诱导胁迫下种子淀粉酶同工酶 I 活性的升高，加速淀粉胚乳的液化或溶解，加速渗透胁迫下小麦种子中可溶性总糖和还原糖量的升高[10-11]。汤绍虎等[12]研究证明，0.1 mmol/L SNP 处理能明显缓解 25% PEG 6000 渗透胁迫造成的氧化损伤，显著促进渗透胁迫下黄瓜种子的萌发和幼苗生长。

NO 可以使非生物胁迫条件下的植物生长发育免受活性氧簇的损害，且效应与植物细胞的生理条件、NO 处理浓度及作物种类有关[8]。本研究表明，SNP 能显著促进干旱胁迫下白花蛇舌草种子的萌发，从发芽率和活力指数来看，0.3 mmol/L SNP 处理的效果最好；从发芽势和发芽指数来看，0.1 mmol/L 和 0.3 mmol/L SNP 处理无显著差异，但显著高于其他 SNP 浓度的处理。0.3 mmol/L SNP 处理的发芽率显著高于 0.1 mmol/L SNP 处理。0.5 mmol/L 和 0.7 mmol/L SNP 处理虽然没有 0.1 mmol/L 和 0.3 mmol/L SNP 处理的效果好，但仍显

著高于对照组。这与前人的研究结果类似。张秀玮等[13]用不同浓度 SNP 处理种子，发现 0.01～0.1 mmol/L SNP 对种子萌发表现为促进作用，1.0 mmol/L SNP 处理对多数种子表现为抑制作用，且对不同作物种子萌发的影响程度不同。由于不同植物对 NO 的敏感性不同，NO 对白花蛇舌草种子影响的作用机制还需要进一步研究。

**参考文献**


[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[2] 方晓立, 龙晓英. 白花蛇舌草成分、药理和临床应用研究概况 [J]. 中药材, 1996, 9(3): 152-153.

[3] 刘丹丹, 戴 娜. 白花蛇舌草抗肿瘤药理研究 [J]. 中医药报道, 2009, 15(9): 64-66.

[4] 张 瑜, 谈献和, 巢建国, 等. 白花蛇舌草驯化种子的初步品质检验 [J]. 江苏中医药, 2005, 26(7): 42-43.

[5] 卢魏魏, 朱再标, 郭巧生, 等. 白花蛇舌草种子质量分级标准研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(12): 1743-1746.

[6] 郭巧生, 吴传万, 刘 俊, 等. 白花蛇舌草种子萌发特性 [J]. 中药材, 2001, 24(8): 548-550.

[7] 王宪叶, 沈文飚, 徐朗莱. 外源一氧化氮对渗透胁迫下小麦幼苗叶片膜脂过氧化的缓解作用 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(2): 195-200.

[8] 陈银萍, 王晓梅, 杨宗娟, 等. NO 对低温胁迫下玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(2): 270-277.

[9] 张晓倩, 王康才, 张彦南, 等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发和幼苗生长生理的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3216-3222.

[10] Zhang H, Shen W B, Xu L L. Effects of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolisms under osmotic stress [J]. *Acta Bot Sin*, 2003, 45: 901-905.

[11] 张 华, 孙永刚, 张 帆, 等. 外源一氧化氮供体对渗透胁迫下小麦种子萌发恶化水解酶活性的影响 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 1(2): 241-246.

[12] 汤绍虎, 周启贵. 外源 NO 对渗透胁迫下黄瓜种子萌发、幼苗生长和生理特性的影响 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(2): 419-425.

[13] 张秀玮, 董元杰, 邱现奎, 等. 外源 NO 对不同作物种子萌发、幼苗生长及抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(2): 397-404.