

质成分运输到不同部位,这也可能是地下部分挥发油中均含甲基正壬酮的原因。

鲜草与干草地上部分挥发油成分间的差异可能来源于干草阴干过程中物质的相互转化和挥发损失,这也可能导致挥发油成分与染色体数目间的关系消失;不同的采收年也会造成这种差异。至于与鲜草一同采收阴干的鱼腥草地上部分挥发油成分变化,将作进一步分析。

笔者曾在分子水平、生化水平对峨眉蕺菜与蕺菜进行了 DNA 分析和同工酶分析,也对两者进行了解剖学研究,结果均表明峨眉蕺菜与蕺菜差异不大<sup>[7~10]</sup>,本研究发现两者在挥发油成分上也并无明显差别。

《中华人民共和国药典》规定鱼腥草为干燥全草,而现在也有使用鲜草的,如鱼腥草注射液。本研究发现干草与鲜草挥发油在化学成分上有较多的差异,干草之间或鲜草之间也同样存在较多差异。因此,有必要分别鉴定其有效成分,制定相应的质量标准。同时,因为鲜草挥发油与染色体数目存在一定关系,所以对于需要鲜草为原料的企业,在 GAP 生产时可以选择染色体数目大于 80 的进行栽培,有利于获得较多的甲基正壬酮,若利用地下部分作为原料

将会有更好的质量可控性。

#### References:

- [1] Zhu Z Y, Zhang S L. A new species of *Houttuynia* medicinal plants in Emeishan [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), 2001, 21 (1): 1-2.
- [2] Wu W, Zheng Y L, Yang R W, *et al.* Variation of the chromosome number and cytotoxicity of *Houttuynia cordata* from China [J]. *Acta Phytotaxon Sin* (植物分类学报), 2003, 41 (3): 245-257.
- [3] Qiao C Z, Cui X. Applications of medicinal plants polyploidy [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1981 (4): 40.
- [4] Lu S M, Liang K J, Ge C J, *et al.* Studies on polyploid breeding of *Achyranthes bidentata* BL [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1988, 13(7): 11.
- [5] Qiao C Z, Wu M S, Dai F B, *et al.* Studies on polyploid breeding of *Isatis Indigotica* Fort [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1989, 31(9): 678.
- [6] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol . 2000.
- [7] Wu W, Zheng Y L, Chen L, *et al.* RAPD analysis on the germplasm resources of *Herba Houttuyniae* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(12): 986-992.
- [8] Wu W, Zheng Y L, Chen L, *et al.* Analysis on genetic diversity of germplasm resources of *Cordate Houttuynia* by ISSR marker [J]. *World Sci Tech- Modern Tradit Chin Med* (世界科学技术- 中药现代化), 2003, 5(1): 70-77.
- [9] Wu W, Zheng Y L, Chen L, *et al.* Isozymes variations among the germplasm resource of *Houttuynia* in Sichuan [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(10): 695-698.
- [10] Yang Y X, Wu W, Zheng Y L. Study on comparative anatomy of different population of *Houttuynia* [J]. *Guihaia* (广西植物), 2003, 23(5): 429-435.

## 干旱胁迫对甘草种子吸胀萌发的影响

刘长利, 王文全, 魏胜利\*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**摘要:** 目的 研究干旱胁迫对甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 种子吸胀萌发的影响及其抗旱性。方法 以甘草种子为试验材料, 采用 PEG-6000 模拟干旱条件, 测定种子吸胀速率、发芽率、种苗生长情况、组织相对含水量、相对电导率、SOD 酶活性等指标。结果 随着胁迫程度的加剧, 甘草种子吸胀速率、发芽率、种苗生长、SOD 酶活性等指标均表现出先升后降的趋势, 而组织相对含水量与相对电导率呈下降趋势。结论 甘草种子在适当的干旱胁迫下不但可以提高种子发芽率, 而且可以提高甘草幼苗的抗旱性。

**关键词:** 甘草; 种子; PEG; 干旱胁迫

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)12-1402-04

### Influence of drought stress on imbibition germination of *Glycyrrhiza uralensis* seed

LIU Chang-li, WANG Wen-quan, WEI Sheng-li

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**Abstract:** **Object** To study the influence of drought stress on imbibition germination of *Glycyrrhiza uralensis* seed and the drought resistance of its seedling. **Methods** To measure the imbibition rate, germi-

\* 收稿日期: 2004-02-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30171141)

作者简介: 刘长利(1974-), 男, 河北承德人, 北京中医药大学中药专业在读博士研究生, 主要从事药用植物生理生态及资源开发方面的研究。 Tel: (010) 64711199-6048-18 E-mail: lc174@126.com

nation rate, seedling growth, relative tissue moisture content, relative electrical conductivity, SOD enzyme activity under drought stress simulated by PEG-6000. **Results** The imbibition rate, germination rate, SOD enzyme activity, and seedling growth present rising tendency then following by the decrease, while the relative tissue moisture content and the relative electrical conductivity tend to decrease. **Conclusion** The appropriate drought stress increases both the *G. uralensis* seed germination rate and the seedling drought resistance.

**Key words:** *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; seed; PEG; drought stress

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 为国家二类保护植物,以根及根茎入药,是国家重点专控药材。其有效成分甘草酸(glycyrrhizic acid, GA)具有广泛的药理活性,Cinatl 等(2003)研究发现能有效抑制 Vero cell 中“非典型肺炎(SARS)”相关病毒的复制<sup>[1]</sup>。甘草是西部荒漠干旱地区重要的植物,李明等(2002)采用 PEG-6000 模拟干旱条件研究了干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响<sup>[2]</sup>,但干旱胁迫对甘草种子吸胀萌发方面的研究尚未见报道。因此,以甘草种子为材料,采用不同 PEG-6000 水溶液模拟干旱胁迫环境来研究甘草种子的抗旱性,对于揭示甘草抗旱机制和指导甘草规范化种植具有重要意义。

## 1 材料与方法

1.1 材料:试验用甘草种子来源于河北安国药材市场,经北京中医药大学刘春生副教授鉴定为乌拉尔甘草 *G. uralensis* Fisch. 种子,经过机械损伤种皮处理后发芽率在 80% 以上。

1.2 方法:实验布置为完全随机区组设计,设置 1 个对照 5 个处理,即分别为:PEG-6000(聚乙二醇,相对分子质量为 6000)水溶液体积分数为 0%、5%、10%、15%、20%、30%,分别以代号 CK、T1、T2、T3、T4、T5 表示,其渗透势<sup>[3]</sup>相当于 0、-0.09、-0.24、-0.43、-0.66、-1.20 MPa。

精选种粒饱满程度一致、颜色淡绿的甘草种子(剔除虫蛀和小粒、硬粒种子),用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 15 min 后,清水冲洗干净后晾干备用。种子吸胀试验以不同的 PEG-6000 溶液浸种。种子发芽试验参照王玮等(1999)的方法<sup>[4]</sup>稍加改进。2001 年 3 月 4 日 8:00,选用  $\Phi 15$  cm 的培养皿,用脱脂棉球蘸无水乙醇擦拭培养皿进行消毒。在每个培养皿中铺双层滤纸,分别加入 8 mL 不同的 PEG-6000 溶液,并在滤纸上均匀摆放 50 粒种子,加盖,作好标记,然后放入光照发芽培养箱中无光照 25℃ 恒温培养,重复 4 次。

种子吸胀速率、发芽率的测定:种子吸胀试验从

试验开始每隔 2 h 取出种子进行称重,计算种子吸胀速率,其计算公式<sup>[5]</sup>为:

$$RW = (B - A) / A \times 100\%$$

式中 A、B 分别为种子吸水前和吸水后的质量, RW 为种子吸胀速率。

种子发芽试验以子叶露出种子为萌发标准,发芽率的观察于培养的第 2 天开始,每隔 6 h 查数一次,第 3 天以后,每隔 12 h 查数一次。发芽指数<sup>[5]</sup>  $(GI) = \sum (Gt / Dt)$ ; 活力指数<sup>[7]</sup>  $(VI) = S \times GI$ 。式中  $Gt$ : 在时间  $t$  d 的发芽数(个),  $Dt$ : 至  $t$  d 的发芽天数(d),  $S$ : 平均根长(mm)。当甘草种子萌发 6 d 后,每个处理取 10 株,分别测定种芽含水量与芽长。

甘草种苗组织相对含水量的测定:采用饱和称重法<sup>[6]</sup>。

甘草种苗原生质膜透性的测定:参照邹琦(1995)的方法<sup>[7]</sup>,采用 DDS-A 型电导仪测定,以相对电导率  $A(\%)$  表示细胞原生质膜透性大小。

甘草种苗全株 SOD 酶活性的测定:采用 NBT(氮兰四唑)光化还原法<sup>[8]</sup>,以每单位时间内抑制光化还原 50% 的氮兰四唑为一个酶活性单位(U)。

试验数据输入计算机 EXCEL 表格进行图表处理,应用 SPSS10.0 统计软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

2.1 PEG 模拟干旱胁迫下种子吸胀速率的变化:不同抗旱类型的种子,在吸胀和萌发时期对水分的要求不同,萌发吸水速度也不相同。一般认为抗旱类型的植物种子吸水速度快,而敏感类型的吸水速度慢<sup>[5]</sup>。从图 1 可以看出,甘草种子经过不同 PEG-6000 溶液模拟干旱胁迫后,一开始,随着体积分数的增大,即溶液水势的降低,种子吸胀速率减缓。但是随着处理时间的延长,PEG-6000 溶液体积分数在 20% 以下的各个处理的吸胀速率都能够逐渐地接近或略大于对照,达 110% 以上。说明甘草种子能够在一定程度的渗透势(-0.66 MPa 以上)下缓慢地吸足水分储存起来,用于抵御外界干旱环境。在体积分数为 30% 的 PEG 渗透胁迫下,甘草种子吸胀

受到阻碍。

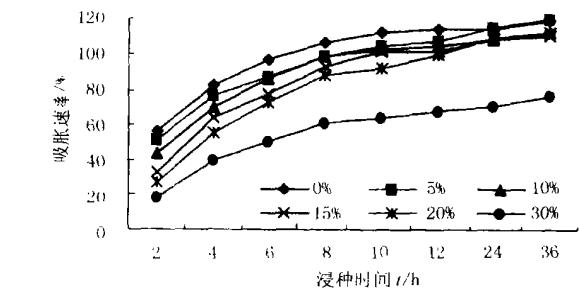


图 1 PEG 模拟干旱胁迫下甘草种子吸胀速率的变化  
Fig. 1 Change of imbibition rate in *G. uralensis* seed under drought stress simulated by PEG

2. 2 PEG 模拟干旱胁迫下种子发芽率的变化: 在不同渗透势下, 植物种子发芽受到的影响不同。如图 2 所示, 在渗透势为 $-1.20\text{ MPa}$  处理下(PEG 体积分数为 30%), 发芽率始终为 0, 说明甘草种子发芽受到完全抑制。在其他各处理中, 随着培养时间的延长, 不同胁迫程度对甘草种子发芽率的影响也各不相同(表 1), 与 T5 相比较, T3 和 T4 受渗透胁迫的负面影响较小, 尤其 T3 受影响更小。T1 和 T2 受到的负面影响是最小的, 只是在发芽势上略低于对照, 而在发芽率、发芽指数和活力指数等方面最终超过了对照, 尤其在活力指数上明显高于对照。结果表明甘草种子在 5% 和 10% 的 PEG 溶液渗透胁迫下对于萌发出苗有促进作用, 并且可能是一个干旱锻炼的过程, 经过锻炼, 使其抗旱性增强, 有利于出苗后抵御干旱环境。

2. 3 PEG 模拟干旱胁迫下种苗生长及其生理活性的变化: 在水分胁迫下, 发芽种子通常会主动调节地上与地下器官的比例, 使其有限的营养物质和水分优先满足根部的生长。从表 2 中可以看出, 在 PEG 渗透胁迫下, 不同程度的胁迫对种苗生长影响不同。从根长/芽长的比值来看, 在一定范围内随胁迫程度的加剧其比值越大; 从根粗/芽粗和根干重/芽干重两者的比值来看, 随胁迫程度的加剧其比值先升后

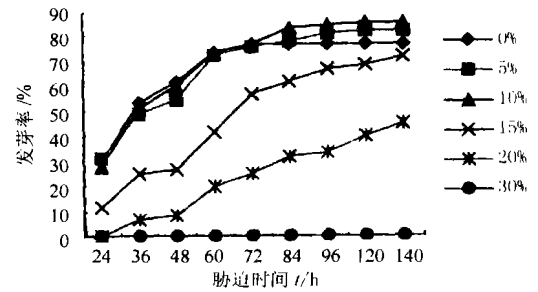


图 2 PEG 模拟干旱胁迫下甘草种子发芽率的变化  
Fig. 2 Change of germination rate in *G. uralensis* seed under drought stress simulated by PEG

表 1 PEG 模拟干旱胁迫对甘草种子发芽情况的影响  
Table 1 Effect of drought stress simulated by PEG on *G. uralensis* seed germination

| 处理代号       | PEG / % | 发芽势 / % | 发芽率 / % | 发芽指数    | 活力指数     |
|------------|---------|---------|---------|---------|----------|
| CK         | 0       | 76.67   | 76.67   | 40.10   | 739.85   |
| T1         | 5       | 75.56   | 82.22   | 40.18   | 1 140.40 |
| T2         | 10      | 74.44   | 85.56   | 40.52   | 1 234.58 |
| T3         | 15      | 56.67   | 71.67   | 25.85   | 687.61   |
| T4         | 20      | 25.00   | 45.00   | 10.90   | 232.17   |
| T5         | 30      | 0.00    | 0.00    | 0.00    | 0.00     |
| $F(5, 13)$ |         | 62.39** | 62.39** | 40.63** | 68.44**  |

\*\*  $P < 0.01$ ;  $F_{0.05}(5, 13) = 3.6875$ ;  $F_{0.01}(5, 13) = 6.6318$

降。总起来看, 芽生长比根生长受 PEG 渗透胁迫更为明显。这表明, 甘草种子在萌发过程中对于外界干旱环境能够首先采取增加胚根/胚芽比来适应, 以缓解直接造成对本身的伤害。这是一种对干旱条件的适应性反应。但是如果胁迫时间延长或很严重时, 种子萌发受到抑制甚至不能萌发成苗。因此说, 在播种时, 一定程度的干旱锻炼是必要的, 以加强其抗旱性能, 但一定要掌握干旱的程度和时间, 避免大量缺苗断垄, 影响最终产量。

在渗透胁迫下, 植物种子萌发受到影响, 原因之一是渗透胁迫引起植物细胞内生理活性的变化。对于甘草种了来说, 在 PEG 渗透胁迫下, 组织相对含水量和相对电导率呈下降趋势, 然而 SOD 活性却表现出先升高后降低的趋势; 另外, 在 T1 处理中, 根

表 2 PEG 模拟干旱胁迫对甘草种苗生长的影响

Table 2 Effect of drought stress simulated by PEG on *G. uralensis* seedling growth

| 处理代号       | PEG / % | 芽长 / cm  | 根长 / cm | 芽粗 / cm | 根粗 / cm | 芽干重 / (mg · 株 <sup>-1</sup> ) | 根干重 / (mg · 株 <sup>-1</sup> ) | 根长 / 芽长 | 根粗 / 芽粗 | 根干重 / 芽干重 |
|------------|---------|----------|---------|---------|---------|-------------------------------|-------------------------------|---------|---------|-----------|
| CK         | 0       | 3.91     | 1.85    | 0.19    | 0.13    | 7.65                          | 0.69                          | 0.47    | 0.656 3 | 0.090 2   |
| T1         | 5       | 3.99     | 2.84    | 0.19    | 0.14    | 7.31                          | 0.87                          | 0.71    | 0.704 9 | 0.118 6   |
| T2         | 10      | 3.37     | 3.05    | 0.16    | 0.11    | 7.05                          | 0.71                          | 0.90    | 0.712 4 | 0.100 2   |
| T3         | 15      | 2.84     | 2.66    | 0.15    | 0.09    | 6.77                          | 0.67                          | 0.94    | 0.600 0 | 0.099 0   |
| T4         | 20      | 1.12     | 2.13    | 0.13    | 0.05    | 5.79                          | 0.45                          | 1.91    | 0.401 5 | 0.077 7   |
| $F(4, 14)$ |         | 256.51** | 4.70*   | 6.47**  | 16.81** | 3.52*                         | 27.95**                       | 11.61** | 10.15** | 9.43**    |

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ;  $F_{0.05}(4, 14) = 3.4781$ ;  $F_{0.01}(4, 14) = 5.9944$

的相对含水量却高于对照 4.21%, 芽和根的相对电导率有明显的下降(表 3)。分析认为, 在 PEG 模拟干旱胁迫下, 电解质渗漏减少, 同时 SOD 活性迅速提高, 加速自由基的清除, 减轻对膜的伤害, 有利于膜的修复, 使得膜稳定性有所增加。这结果与廖祥儒等(1995)<sup>[4]</sup>以绿豆为材料的研究结果相似。

表 3 PEG 模拟干旱胁迫对甘草种苗生理活性的影响  
Table 3 Effect of drought stress simulated by PEG on *G. uralensis* seedling physiological activity

| 处理<br>代号         | PEG<br>/ % | 组织相对含水量/ % |         | 相对电导率/ % |       | 整株 SOD 活性<br>(U · h <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> 鲜重) |
|------------------|------------|------------|---------|----------|-------|---------------------------------------------------------|
|                  |            | 芽          | 根       | 芽        | 根     |                                                         |
| CK               | 0          | 80.76      | 78.82   | 13.48    | 31.35 | 615.682                                                 |
| T1               | 5          | 80.93      | 83.03   | 9.00     | 22.86 | 719.540                                                 |
| T2               | 10         | 79.56      | 71.58   | 8.68     | 22.15 | 803.826                                                 |
| T3               | 15         | 72.76      | 61.13   | 8.64     | 17.41 | 899.476                                                 |
| T4               | 20         | 61.66      | 42.72   | 8.22     | 15.68 | 771.288                                                 |
| <i>F</i> (4, 14) |            | 7.36**     | 15.38** | 3.64*    | 4.24* | 9.14**                                                  |

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ;  $F_{0.05}(4, 14) = 3.478$ ;  $F_{0.01}(4, 14) = 5.994$

3 结论

干旱胁迫下种子吸胀萌发特性对幼苗生存具有十分重要的意义, 一般野生于干旱荒漠地区的植物种子具有独特的萌发特性, 以适应该区的降水条件。关于甘草种子在干旱胁迫下萌发特性的研究未见报道。研究发现, PEG-6000 模拟干旱处理可以延迟甘草种子在水分不充足的条件下萌发, 浓度的增高(低于 15%)使甘草种子在前期发芽率较低而在 120 h 后也能达到大部分膨胀, 其主要原因是, 随着模拟干旱胁迫强度的增加, 甘草种子内部膜系统的修复将更加延缓, 当然浓度过高则不能修复。由此不难看出 PEG-6000 处理虽然抑制种子的发芽势, 但发芽率却在 PEG 为 10% 时达到最高。在生产实践中可以用该浓度的 PEG-6000 浸种来促进萌发。同时, 渗透胁迫, 能促使种苗的相对含水量降低, 并提高种苗细

胞膜透性。PEG-6000 处理能显著提高种子室内发芽力和活力水平, 这主要是因为 PEG-6000 能够延缓种子初期的吸水速率。这说明 PEG-6000 在种子萌发过程中对种子壮苗的形成起了决定性作用, 也就是说壮苗的形成不仅需要种子内部营养的积蓄而且需要有良好的细胞膜构造, 产量的提高更需要有健壮的植株和较强的抗逆机理的苗木。因此, 在甘草播种和育苗的生产环节中, 根据甘草种子的吸胀萌发特性, 应给予适当的干旱环境, 促进根系的伸长生长, 提高自身抗旱性, 培养壮苗, 为提高人工种植甘草的药材产量和质量奠定良好的物质基础。

References:

[1] Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, *et al.* Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus [J]. *Lancet*, 2003, 361(9374): 2045-2046.

[2] Li M, Wang G X. Effect of drought stress on activities of cell defense enzymes and lipid peroxidation in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2002, 22(4): 503-507.

[3] Wang Y G, Jing J H, Feng W S, *et al.* Comparison of thermocouple psychrometry and freezing point osmometer for measuring polyethylene glycol 6 000 osmotic potentials [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1996, 32(4): 278-280.

[4] Wang W, Zou Q, Yang J, *et al.* The dynamic characteristics of coleoptile growth under water stress in different drought-resistant wheats [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1999, 35(5): 359-362.

[5] Song S M. The comprehensive evaluation of drought tolerance for alfalfa in Gansu [J]. *Acta Pratacul Sin* (草业学报), 1998, 7(2): 74-80.

[6] East China Normal University. *Plant Physiology Experiment Guides* (植物生理实验指导) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1990.

[7] Zou Q. *Plant Physiology and Biochemistry Experiment Guides* (植物生理生化实验指导) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995.

[8] Zhu G L, Zhong H W, Zhang A Q. *Plant Physiology Experiment* (植物生理学实验) [M]. Beijing: Peking University Press, 1990.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本, 包括: 1974-1975 年、1976 年、1979 年、1985-1994 年(80 元/年)、1995-1997 年(110 元/年)、1998 年(120 元/年)、1999 年(135 元/年)、2000 年(180 元/年)、2001-2003 年(200 元/年)、2004 年(220 元/年); 1996 年增刊(50 元)、1997 年增刊(45 元)、1998 年增刊(55 元)、1999 年增刊(70 元)、2000 年增刊(70 元)、2001 年增刊(70 元)、2002 年增刊(65 元)、2003 年增刊(65 元)、2004 年增刊(65 元)。欢迎订购。  
电话: (022) 27474913; (022) 23006821(传真)。