

单叶蔓荆种子休眠特性研究

孙荣进^{1,2}, 罗光明^{2*}

1. 湖北医药学院药学院, 湖北 十堰 442000

2. 江西中医学院药学院, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 研究单叶蔓荆种子休眠的原因及解除休眠的方法。方法 以单叶蔓荆的果实(蔓荆子)为材料, 用石蜡切片法研究单叶蔓荆种子形态解剖学特点, 通过种子吸胀和抑制物测试研究其休眠原因, 采用浓硫酸和赤霉素(GA₃)处理打破种子休眠。结果 打破单叶蔓荆种子休眠的方法为 GA₃ 处理, 解除休眠的最佳方法为浓硫酸处理 15 min, 1.0 mg/mL GA₃ 浸种 18 h, 蛭石培养床 30 ℃ 恒温培养能够达到发芽率 78.7%。结论 蔓荆具有坚硬厚实的果皮, 机械束缚是休眠的主要原因; 果皮中含有萌发抑制物质, GA₃ 处理可有效解除单叶蔓荆种子的生理休眠。

关键词: 单叶蔓荆; 赤霉素; 解除休眠; 休眠特性; 种子吸胀

中图分类号: R282.4 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)08-1621-05

Seed dormancy characteristics for *Vitex trifolia* var. *simplicifolia*

SUN Rong-jin^{1,2}, LUO Guang-ming²

1. School of Pharmacy, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China

2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Key words: *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.; gibberellin(GA₃); breaking dormancy; dormancy characteristics; seeds imbibing

蔓荆子为马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或蔓荆 *V. trifolia* L. 的干燥成熟果实^[1-2]。蔓荆在临床应用较广, 同时蔓荆又是优良的园林绿化、防风固沙、改良土壤的物种, 具有较高的开发利用价值^[3]。但蔓荆资源破坏严重, 已被列为国家重点保护野生药材物种名录(三类)。因蔓荆种子有休眠特性, 目前生产上主要以营养繁殖为主^[4-5]。因此研究蔓荆种子休眠特性, 对蔓荆资源的保护、可持续利用以及 GAP 基地的建设具有重要意义。

1 材料与试剂

2009年9月于江西省新建县厚田沙漠收集蔓荆种子, 经江西中医学院赖学文教授鉴定为单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 的干燥成熟果实, 阴干后, 净度风选仪清选空壳, 牛皮纸袋常温保存。赤霉素(GA₃, 上海楷洋有限公司)、浓硫酸(浙江一恒有限公司)、白菜种子(济南睿泰农业科技开发有限公司)、CFY—II 风选净度仪(浙江托普有限公司)。

2 方法

2.1 单叶蔓荆果实形态特征及种子空壳率的测定

观察单叶蔓荆果实形态; 游标卡尺测定单叶蔓荆果实的大小; 用万分之一的电子天平测定果实千粒质量; 石蜡切片观察胚发育。随机挑选 100 粒单叶蔓荆果实, 横切单叶蔓荆果实, 计数种子, 重复 3 次, 净度风选仪清选后计算空壳率。

2.2 单叶蔓荆种子生理特征研究

2.2.1 果实和种子吸水率的测定 取完整果实和用 98% 浓硫酸处理 15 min 的酸蚀果实各 100 粒称其质量, 在 25 ℃ 条件下蒸馏水浸泡, 前 12 h 每 2 h 取出果实, 滤纸吸干表面水分后用万分之一的电子天平称其质量, 以后每 6 h 称其质量至恒定, 每次测定重复 3 次, 计算吸水率。测定完后解剖出果实中的 100 粒种子称质量, 3 次重复求平均值记为种子质量。

吸水率 = (浸种后果实质量 - 浸种前果实质量) / 浸种前果实质量

2.2.2 萌发抑制物质测定 参考王小平等^[6]的提取方法。准确称取单叶蔓荆内果皮、外果皮、果实各

收稿日期: 2011-11-12

基金项目: 国家重大科技专项“中药材种子种苗和种植(养殖)标准平台”(2009ZX09308-002)

作者简介: 孙荣进(1986—), 男, 研究生, 研究方向为中药材质量控制与资源开发。Tel: 13155823632 E-mail: dutingsrj@163.com

*通讯作者 罗光明 Tel: (0791)7118982 E-mail: jzlgm88@163.com

2.0 g, 加 80% 甲醇研磨, 4 ℃ 密封浸提 48 h, 振荡, 滤过, 35 ℃ 减压浓缩至水相, 蒸馏水定容至 40 mL, 分别稀释为原质量分数的 10%、20%、30%、100%, 以蒸馏水为对照。25 ℃ 条件下分别用蒸馏水和不同质量分数的浸提液浸泡白菜种子 2 h, 每处理 50 粒, 重复 4 次, 计算白菜种子发芽率和萌发势。

萌发势 = 发芽后 8 天内正常发芽种子数 / 参试种子总数

2.3 解除休眠试验

2.3.1 浓硫酸处理 用 98% 浓硫酸分别浸泡成熟的黑色单叶蔓荆种子 0.5、5、10、15、30、60 min 后, 用清水冲洗 2 h, 然后用纱布搓掉单叶蔓荆表面碳化物质, 再用清水冲洗至中性后用次氯酸钠消毒 15 min, 然后清洗至中性, 以胚根长出 1 mm 为发芽标准, 将单叶蔓荆种子记为复胚种子计算发芽率。

发芽率 = 正常发芽种子数 / 参试种子总数

2.3.2 不同质量浓度 GA₃ 对种子发芽率的影响 将酸蚀和未酸蚀的单叶蔓荆种子分别浸泡于 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、5.0 mg/mL GA₃ 溶液中浸泡。用次氯酸钠消毒 15 min, 然后用蒸馏水清洗至中性。将每种处理的单叶蔓荆种子放入 30 ℃ 光照培养箱全光照培养 20 d, 试验平行 4 组, 每组 50 粒。以胚根长出 1 mm 为发芽标准, 将单叶蔓荆种子记为复胚种子, 计算发芽率。

2.3.3 GA₃ 浸泡时间对种子发芽率的影响 将酸蚀处理后的种子, 常温 (20 ℃) 浸泡于 1.0 mg/mL GA₃ 溶液中, 浸泡的时间为 1、6、12、18、24、36 h, 其余试验同 “2.3.2” 项方法操作。

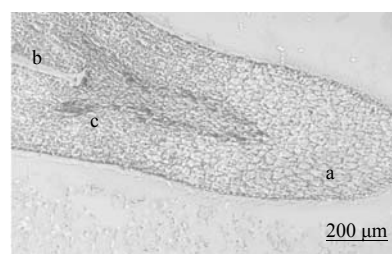
2.3.4 萌发条件的优化 将浓硫酸酸蚀 15 min, 1.0 mg/mL GA₃ 常温 (20 ℃) 浸泡 18 h 后的单叶蔓荆种子置入光照培养箱, 培养温度为恒温 15、20、25、30 ℃ 和变温 30/20、25/15 ℃ (高温 18 h, 低温 8 h) 6 种, 每个温度用蛭石、湿沙、滤纸、海绵 4 种培养床 (蛭石和沙子的直径为 0.05~0.8 mm)。每个处理平行 4 组, 每组 50 粒。以胚根长出 1 mm 为发芽标准, 将单叶蔓荆种子记为复胚种子, 计算发芽率。数据采用 SPSS 11.0 进行统计分析。

3 结果与分析

3.1 果实形态特征

单叶蔓荆果实为核果, 新鲜果实表面呈黄色或紫红色, 密被白絮状绒毛, 成熟和阴干后表面褐色或者黑色。顶端微凹, 基部有灰白色宿萼 4.5~6.5 mm, 横轴 4.2~6.0 mm, 横轴与纵轴比为 1.05±0.06, 果实类似圆球型。含短小果梗, 萼长为果实

的 1/3~2/3, 边缘 5 齿裂, 其中 2 裂较深。单叶蔓荆果实纵轴内通常含有 0~4 粒种子, 本实验中的单叶蔓荆种子为形态学上的果实, 平均千粒质量 24.65 g。内部种子石蜡切片见图 1, 有完整的胚, 因此不存在生理后熟。单叶蔓荆种子的空壳率为 20%。



a-胚根 b-子叶 c-胚芽
a-radicle b-cotyledon c-plumule

图 1 单叶蔓荆种子石蜡切片图

Fig. 1 Seed paraffin slice for *V. trifolia* var. *simplicifolia*

3.2 休眠特性研究

3.2.1 单叶蔓荆果实和种子的吸水率 酸蚀和未酸蚀的单叶蔓荆果实吸水率差异显著, 百粒未酸蚀果实和酸蚀果实干质量分别为 7.826 8 和 7.237 1 g, 水中浸泡 18 h, 质量恒定, 未酸蚀的果实为 18.012 7g、酸蚀为 12.079 1g。吸水率分别为 130.0% 和 66.9%, 见图 2。单叶蔓荆果实内部种子的百粒质量为 0.259 7 g, 酸蚀 15 min, 仅去掉外果皮和中果皮, 酸蚀和未酸蚀的果实在 18 h 达到质量恒定后, 内部种子百粒质量分别为 0.308 5 g 和 0.304 1 g, 两者质量无显著差异, 但与未浸泡的果实内的种子存在显著性差异 ($P < 0.05$), 证明单叶蔓荆种子无吸水障碍。

3.2.2 果皮中抑制物的测定 不同质量分数单叶蔓荆外果皮、中果皮、果实浸提液处理的白菜种子发芽率、萌发势与对照差异显著, 且随质量分数升高的物质, 结果见表 1。

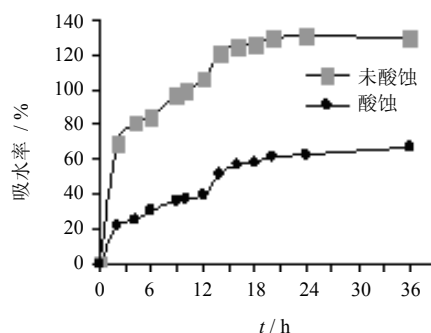


图 2 单叶蔓荆种子吸水曲线图

Fig. 2 Seed imbibing curve for *V. trifolia* var. *simplicifolia*

表 1 不同质量分数单叶蔓荆果皮和果实浸提液对白菜种子萌发的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of different concentration of extracts from pericarps and fruits of *V. trifolia* var. *simplicifolia* on cabbage seed germination rate ($\bar{x} \pm s$)

浸提液 / %	果实浸提液		中果皮浸提液		外果皮浸提液	
	萌发势 / %	发芽率 / %	萌发势 / %	发芽率 / %	萌发势 / %	发芽率 / %
对照	82.0±4.2	84.7±2.0	82.0±4.2	84.7±2.0	82.0±4.2	84.7±2.0
10	53.3±5.8	60.0±8.7	66.0±5.3	68.7±3.1	58.0±8.0	60.7±5.0
20	63.0±10.3	64.0±8.0	63.3±3.1	68.7±4.6	56.0±8.0	62.7±4.2
40	64.0±6.9	66.7±6.4	66.7±5.0	70.7±4.6	61.3±2.3	64.0±3.5
100	58.0±12.2	60.0±14.0	59.3±4.2	66.0±2.0	55.3±7.6	56.0±4.0

3.3 解除休眠的研究

3.3.1 酸蚀时间的选择 分别考察浓硫酸酸蚀 0.5、5、10、15、30、60 min 的蔓荆种子发芽率, 结果分别为 64.0%、65%、71%、72%、69.0%、69.0%。随酸蚀时间增加发芽率呈先上升后下降, 最终考察的硫酸最佳的酸蚀时间为 15 min。酸蚀处理提高萌发率可能与克服果皮的机械阻力有关。酸蚀处理 30 min 的果实有种子腐烂, 酸蚀处理时间过长可能导致对种子的伤害, 使种子腐烂而影响萌发。

3.3.2 GA_3 质量浓度对单叶蔓荆发芽率的影响 采用 SPSS 11.0 单因素分析不同质量浓度 GA_3 对酸蚀处理的种子发芽率的影响, 酸蚀 9 d 后, 结果表明 1.0、2.0 和 5.0 mg/mL GA_3 处理无显著性差异 ($P>0.05$), 但是 1.0 与 0.5 和 0.1 mg/mL GA_3 处理有显著性差异。1.0 mg/mL GA_3 处理发芽率和萌发势显著高于 0.5 和 0.1 mg/mL, 故选用 GA_3 的质量浓度为 1.0 mg/mL (表 2)。

3.3.3 酸蚀对 GA_3 处理后种子发芽率的影响 在相同 GA_3 浓度条件下酸蚀种子的发芽率明显高于未酸蚀处理, 且酸蚀能提高种子的萌发势。浸种第 8 天酸蚀处理的单叶蔓荆种子的发芽率最高为 50.5%, 未处理的空白为 12.0%。16 d 时发芽率达到最高, 酸蚀处理的发芽率最高为 78.5%, 而未酸蚀的发芽率为最高 68%, 见表 2。因此单叶蔓荆种子用硫酸酸蚀处理对种子发芽率有显著的提高作用。

3.3.4 GA_3 浸泡时间对单叶蔓荆种子发芽率的影响 随着浸泡时间的增长, 单叶蔓荆种子的发芽率先逐渐上升然后下降, 在 18 h 的时候得到最高的发芽率, 这可能与单叶蔓荆种子长期泡在水中导致不能得到充足的氧气有关, 见图 3。结合蔓荆种子吸水曲线图, 单叶蔓荆种子在 18 h 后达到饱和, 吸水后的果实为干果实的 2.3 倍, 故浸种时间为 18 h。

3.3.5 培养床和温度对单叶蔓荆种子发芽率的影响

表 2 不同质量浓度的 GA_3 处理 5~17 d 对未酸蚀和酸蚀种子发芽率的影响

Table 2 Effect of different concentration of GA_3 on germination rate of seeds treated and untreated with acid for 5—17 d

处理	GA_3 / (mg·mL ⁻¹)	发芽率 / %												
		5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d
未酸蚀	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0
	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	3.0	9.0	12.0	13.0	16.0	23.0	25.0	25.0
	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	9.0	17.0	24.0	36.0	44.0	49.0	52.0	53.0
	2.0	0.0	0.0	0.0	8.5	17.5	23.0	34.5	48.5	52.0	57.0	65.0	68.0	68.0
	5.0	0.0	0.0	0.0	12.0	32.0	34.0	45.0	62.0	67.0	67.0	68.0	68.0	68.0
酸蚀	0.1	0.0	1.0	4.5	4.5	6.5	13.0	16.0	18.5	20.0	24.0	24.0	30.5	30.5
	0.5	0.0	10.5	16.0	29.5	45.5	49.5	49.5	57.5	60.0	64.0	64.0	68.5	68.5
	1.0	0.0	17.0	25.5	36.0	62.5	65.5	65.5	72.0	72.0	76.0	76.0	78.5	78.5
	2.0	0.0	19.5	30.5	50.5	60.0	71.0	72.0	74.0	76.5	76.0	76.0	77.5	77.5
	5.0	0.0	18.5	31.5	55.5	58.0	69.0	69.0	70.0	71.5	75.0	75.0	77.0	77.0

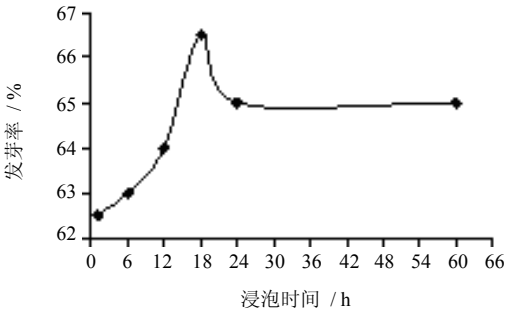


图 3 GA_3 的浸泡时间对单叶蔓荆种子发芽率的影响

Fig. 3 Effect of GA_3 soaking time on seed germination rate of *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia*

表 3 不同培养床和温度对单叶蔓荆发芽率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of different germination media and temperatures on seed germination rate of *V. trifolia* var. *simplicifolia* ($\bar{x} \pm s$)

温度 / $^{\circ}\text{C}$	发芽率 / %			
	湿沙	蛭石	海绵	滤纸
15	4.0 $\pm$ 4.0*	8.0 $\pm$ 6.0*	2.0 $\pm$ 4.0*	8.0 $\pm$ 4.0*
20	70.0 $\pm$ 6.0	76.0 $\pm$ 4.0	68.0 $\pm$ 6.0	70.0 $\pm$ 4.0
25	66.7 $\pm$ 10.1	68.0 $\pm$ 11.6	58.7 $\pm$ 2.3	61.3 $\pm$ 8.3
30	77.3 $\pm$ 6.1*	78.7 $\pm$ 6.1	62.7 $\pm$ 6.1	64.0 $\pm$ 4.0
25/15	54.7 $\pm$ 6.1	46.7 $\pm$ 4.0*	1.3 $\pm$ 12.2*	58.7 $\pm$ 8.3*
30/20	77.3 $\pm$ 6.1	77.3 $\pm$ 4.6	46.7 $\pm$ 12.2	68.0 $\pm$ 6.9

* 表示在 5%水平上差异显著

* means significant difference at 0.05 level

皮的机械障碍；第二，果皮中的发芽抑制物抑制。 GA_3 作为一种重要的植物内源激素，是一种萌发刺激物质，在种子的萌发中起着重要的调节作用^[7-8]。 GA_3 在单叶蔓荆发芽过程中的作用为促进内源 GA_3 和生长素的合成，提高种子活力，从而解除种子休眠。此研究相对于扦插和非试管育苗更加简便易行，为单叶蔓荆的规模化种植和野生资源的保护提供了技术支持。

4.2 提高单叶蔓荆种子发芽率的探讨

打破种子休眠、促进萌发的方法很多，其中化学物质和激素共同对种子进行处理是最常用的方法，例如狷实种子、青钱柳种子、山茱萸种子等在酸蚀的基础上经 GA_3 溶液浸种处理可显著提高其发芽率^[9-12]，本实验结合单叶蔓荆休眠的原因，采用浓硫酸酸蚀和 GA_3 共同解除单叶蔓荆种子休眠。浓硫酸酸蚀克服了果皮的机械束缚，去除了果皮中的萌发抑制物，显著提高了发芽率。单叶蔓荆种子发芽率低于 80% 的原因为单叶蔓荆的空壳率，采用净度风选仪清选空壳能清选出部分空壳，但需要进

考察 4 种培养床对单叶蔓荆种子发芽率的影响，结果表明，培养床的选择以蛭石最优。结合种子发芽率说明 30 $^{\circ}\text{C}$ 下最适合单叶蔓荆种子的萌发，见表 3。

3.3.6 解除单叶蔓荆种子休眠的最佳方法 以上结果表明，解除单叶蔓荆种子休眠的方法为 GA_3 处理，最佳的发芽条件为将浓硫酸酸蚀 15 min 后的单叶蔓荆种子用 1.0 mg/mL GA_3 浸泡 18 h 后在蛭石培养基上 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养，发芽率可以达到 78.7%。

4 讨论

4.1 单叶蔓荆种子休眠原因的探讨

单叶蔓荆种子的休眠原因：第一，单叶蔓荆果

一步研究清选单叶蔓荆空壳的方法。

4.3 培养床和温度对单叶蔓荆种子发芽率的影响

单叶蔓荆内果皮为石细胞层，且完全木栓化，仅有果梗残留下一个核孔吸收氧气和水分。湿沙或蛭石为培养床时，单叶蔓荆种子通气性和吸水性最好。这也符合单叶蔓荆的生长环境。单叶蔓荆的发芽试验中，不同温度的最小显著差异法 (LSD) 比较的结果表明，20、25、30、30/20 $^{\circ}\text{C}$ 四者之间无显著性差异，但与 15、25/15 $^{\circ}\text{C}$ 之间均存在显著性差异，结合种子发芽率说明 30 $^{\circ}\text{C}$ 以下的温度最适合单叶蔓荆种子的萌发。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
[2] 尹文清, 陈柳生, 王力生, 等. 正交设计优选蔓荆中总黄酮的提取工艺 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 216-217.
[3] 乔勇进, 张敦论, 郝金标, 等. 沿海沙质海岸单叶蔓荆群落特点及土壤改良的分析 [J]. 防护林科技, 2001, 4 (49): 6-8.
[4] Khan A A. *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination* [M]. Amsterdam: North

- Holland Publishing Company, 1977.
- [5] 靳光乾, 刘善新, 王晓明, 等. 蔓荆非试管营养器官育苗快速实验 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2005; 7(6): 83-85.
- [6] 王小平, 王九龄. 白皮松种子内含物的提取、分离及生物测定 [J]. 种子, 1998, 17(5): 19-22.
- [7] Maarten K, Bentsink L, Henk H. Seed dormancy and germination [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 5(1): 33.
- [8] 杜 婷, 孙荣进, 罗光明, 等. 单叶蔓荆种子的最佳采收期 [J]. 江西中医学院学报, 2011; 23(4): 29-30.
- [9] 许月明. GA₃ 对杉木种子萌发及生物大分子合成的影响研究 [J]. 种子, 1990, 7(1): 19-21.
- [10] 何 志, 唐宇丹, 石 雷, 等. 猬实种子休眠特性研究 [J]. 园艺学报, 2008(10): 193-196.
- [11] 尚旭岚. 青钱柳种子休眠机理及其解除休眠方法的研究 [D]. 南京: 南京林业学, 2007.
- [12] 刘雅帅. 山茱萸种子休眠机理研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2008.

“十二五”国家重点图书出版规划项目

《植物药活性成分大辞典》(上、中、下册)



植物中的活性成分是植物药发挥疗效的物质基础,植物活性成分研究是阐释植物药的生物活性、临床疗效和毒性的必要手段,也是新药发现和创制的可行途径,更是中药药效物质基础研究、质量控制以及配伍合理性及作用规律研究的前提和基础。近些年来,随着国际上植物化学以及天然药物化学学科的迅速发展,大量的植物活性成分被研究和报道,形成大量、丰富的植物活性成分研究的信息源。但是,这些资料作为原始文献散在于成千上万的中外学术期刊上,不能满足读者对植物活性成分的系统了解、方便查阅和迅速掌握的需要。

天津药物研究院在国家科技部和原国家医药管理局新药管理办公室支持下,在建立“植物活性成分数据库”的基础上,组织科研人员经过几年的艰苦努力编纂了大型工具书《植物药活性成分大辞典》。本套书分上、中、下共三册,共收载植物活性成分 8 719 个,共约 700 万字。正文中每个活性成分包含英文正名、中文正名、异名(异名之间用分号隔开)、化学名、结构式、分子式和分子量、理化性状(晶型、熔点、溶解性、旋光、紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱)、植物来源、生物活性等内容。并于下册正文后附有三种索引——植物药活性成分中文名、植物药活性成分英文名和植物拉丁名索引。全书涵盖大量国内外专业期刊的翔实数据,内容丰富、信息量大,具有反映和体现信息趋时、简便实用的特色;作者在注重数据科学性、系统性的同时,着眼于全球药物研发前沿需求与我国市场实际应用的结合,为新药研究人员选题、立项、准确评价成果提供快速、简便、有效的检索途径,为植物药的开发、利用提供疗效优异、结构独特的活性分子或先导化合物。

本套书的出版必将为我国“十二五”医药事业发展和天然药物产业发展提供翔实而可靠的科学数据和技术支撑,为促进植物药资源的利用,重大创新药物的研究以及促进特色产业的可持续发展提供趋时的数据资源和检索途径。

该书已批准列入“十二五”国家重点图书出版规划项目,于 2011 年 11 月由人民卫生出版社出版发行,大 16 开精装本,每套定价 588 元。