

硫酸锰浸种处理对黑柴胡种子萌发效应的研究

张胜珍, 马艳芝, 姜峰, 客绍英

(唐山师范学院 生命科学系, 河北 唐山 063000)

摘要:以黑柴胡为试材,研究了不同浓度硫酸锰浸种对黑柴胡种子萌发及萌发过程中种子生理生化指标的影响。结果表明:0.25~1.00 g/L 的硫酸锰处理提高了黑柴胡种子的发芽率和发芽势,其中以 0.50 g/L 浓度处理效果最好。与清水对照相比,硫酸锰浸种处理后黑柴胡种子电导率降低,这表明硫酸锰处理能促进膜系统的修复;此外,硫酸锰浸种后黑柴胡种子呼吸速率、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量及淀粉酶活性均提高,从而为种子萌发提供能源和物质基础。

关键词:硫酸锰;黑柴胡;种子萌发;生理生化指标;种子生活力

中图分类号:S 567.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0151-04

柴胡是常用的中药材,医药领域用途广泛,需求量逐年增加,但野生资源日趋匮乏。因此,柴胡的人工栽培已成为研究的热点^[1-2]。柴胡主要以种子繁殖为主,但是柴胡种子在正常条件下的发芽率较低,完成发芽过程的时间长,部分种子存在休眠现象,因此在生产中存在出苗难、出苗率低而不整齐的问题,极大的限制了柴胡的人工栽培^[3]。提高发芽率是进行柴胡人工栽培的基础和前提。因此实际生产中必须摸清种子的生理、生物特性,用人工方法打破其休眠性,促进种子生理后熟及萌发。关于柴胡种子处理方法,前人已做过许多有益的探索,主要包括药剂处理、激素处理、砂藏处理、射线

处理、超声波处理等^[4-7]。有文献表明,适宜浓度的锰浸种处理可以提高大豆、玉米、艳山姜等种子的发芽率和活力指数^[8-11]。但目前关于硫酸锰对柴胡种子萌发的影响尚鲜见报道。该试验采用不同浓度硫酸锰溶液对柴胡种子进行浸种处理,测定发芽率及种子萌发过程中生理生化指标的变化,以明确硫酸锰浸种对柴胡种子萌发的影响,并分析其作用机理,以期为解决柴胡种子萌发难问题提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黑柴胡(*Bupleurum smithii* Wolff.)种子来源于山西省万荣县,千粒重为 0.9207 g。

1.2 试验方法

黑柴胡种子经 70%酒精表面消毒 30 s,0.1%升汞消毒 8 min,蒸馏水冲洗 3~4 次后,选取大小均匀的种子,分别用 0.25、0.50、0.75、1.00 g/L 的硫酸锰溶液浸种

第一作者简介:张胜珍(1979-),女,硕士,副教授,现主要从事药用植物学与生物技术等研究工作。E-mail:854797510@qq.com。

基金项目:国家科技部子课题资助项目(2011BAI07B05-4);唐山市科技资助项目(12130203A)。

收稿日期:2014-05-27

Effect of Three Kinds of Vitamins on Solid Culture of *Pholiota microspora*

DU Chun-mei, OU Ying-man, DONG Xi-wen, DUN Yuan-yuan

(College of Life Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Taking *Pholiota microspora* as material, the effect of different kinds of vitamin on a solid culture of *Pholiota microspora* were studied. The average daily growth rate of *Pholiota microspora* mycelium was measured, which inoculated in solid plate including vitamin B₁ (VB₁), vitamin B₂ (VB₂) and vitamin B₁₂ (VB₁₂), respectively. Optimal concentration of each vitamin to promote the growth of mycelium and suitable composition were determined by single factor test and orthogonal experiment, respectively. The results showed that the appropriate concentration of VB₁, VB₂ and VB₁₂ could promote the growth of mycelia. The best concentration of vitamins was as follows: VB₁ 0.13 μg/mL, VB₁₂ 0.05 μg/mL and VB₂ 0.10 μg/mL.

Keywords: *Pholiota microspora*; vitamin B family; solid culture; mycelium; daily average growth

24 h,以清水浸种 24 h 为对照(CK)。浸种结束,将种子用蒸馏水反复冲洗后放于培养皿中,于 20℃ 12 h+15℃ 12 h 条件下进行发芽试验。每处理 100 粒,3 次重复。试验中保持滤纸湿润并观察记载种子发芽情况,将连续 4 d 不再有种子发芽的时间作为种子发芽结束期^[12],按下式计算发芽势和发芽率。发芽势(%)=规定日数(25 d)内发芽种子总数/供检种子总数×100%,发芽率(%)=试验结束发芽种子总数/供检种子总数×100%。

1.3 项目测定

取饱满的黑柴胡种子,用筛选的最佳浓度硫酸锰溶液浸种 24 h,以清水浸种 24 h 为对照。浸种结束,将种子用蒸馏水反复冲洗后,放于培养皿中培养;每隔 5 d 取出部分种子,进行生理生化指标的测定。呼吸速率的测定采用小篮子法^[13];相对电导率的测定用电导率仪法;可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法^[13];可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝比色法^[14];淀粉酶活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[15]。

2 结果与分析

2.1 硫酸锰处理对黑柴胡种子萌发的影响

从表 1 可以看出,与对照相比,0.25~1.00 g/L 的硫酸锰浸种处理对黑柴胡种子萌发均有一定的促进作用,且种子发芽势和发芽率随硫酸锰浓度的升高均表现为先升高后降低的趋势。当硫酸锰浓度为 0.50 g/L 时,种子的发芽势和发芽率均达最高值,即 0.50 g/L 浓度处理效果最好。

表 1 不同浓度硫酸锰浸种对黑柴胡种子萌发的影响

Table 1 Effect of $MnSO_4$ with different concentrations on germination of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

指标 Index	硫酸锰浓度 Concentration of $MnSO_4$ /(g·L ⁻¹)	0(CK)	0.25	0.50	0.75	1.00
发芽势 Germination potential/%		6.00	23.33	32.67	27.67	28.33
发芽率 Germination rate/%		14.00	36.33	49.00	45.67	44.33

2.2 硫酸锰处理对黑柴胡种子呼吸速率的影响

由图 1 可知,在种子开始萌发到第 10 天,经硫酸锰处理的种子呼吸速率一直在增加,之后小幅下降,15 d 后又有较大幅度的升高。对照的呼吸速率也一直在增加,但始终低于处理组,说明硫酸锰处理利于种子呼吸作用的进行,可以为种子提前萌发提供更多能量和物质基础。

2.3 硫酸锰处理对黑柴胡种子相对电导率的影响

有资料表明干种子内部细胞膜系统存在着某些损伤,有待修复。因此,种子在吸涨时细胞会发生相应的修复性代谢变化^[16]。而种子在发芽吸胀初期的细胞膜重建和损伤修复的能力影响种子电解质和可溶性物质外渗的程度,高活力种子重建膜的速度和修复损伤的程

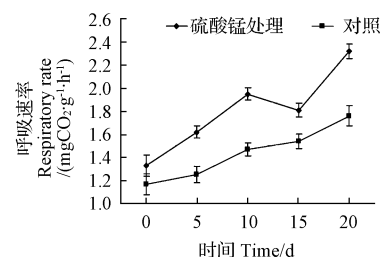


图 1 硫酸锰处理对黑柴胡种子呼吸速率的影响

Fig. 1 Effect of $MnSO_4$ soaking on respiratory rate of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

度快于和好于低活力种子。因此,高活力种子浸泡液的电导率低于低活力的种子。由图 2 可知,发芽初期硫酸锰处理与对照处理种子的电导率均较高,而随着种子的萌发,种子浸出液的电导率呈不断降低趋势,说明随着种子的吸涨、萌发,种子内细胞膜修补过程完成,膜逐渐恢复正常功能,种子内溶质的渗出得以阻止。而对照种子的电导率整体高于硫酸锰处理,说明对照组种子对膜系统的修复能力较硫酸锰处理差。

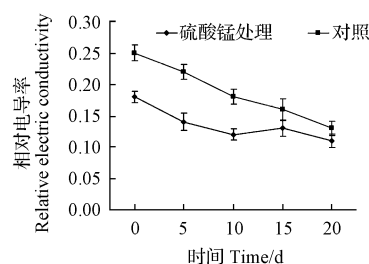


图 2 硫酸锰处理对黑柴胡种子相对电导率的影响

Fig. 2 Effect of $MnSO_4$ soaking on relative electric conductivity of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

2.4 硫酸锰处理对黑柴胡种子可溶性糖含量的影响

由图 3 可知,硫酸锰处理与对照处理种子可溶性糖含量变化趋势相同,均表现为降低-升高-降低趋势。种子萌发过程中,初期主要消耗的碳水化合物主要来源于胚部或胚中轴的可溶性糖,而贮藏组织中的淀粉等大分子物质的分解利用需在种子萌动之后。因此无论硫酸锰处理还是对照处理,种子可溶性糖含量在初期均表现为大幅下降。随着种子的萌发,种子可溶性糖含量开始增加,这可能与淀粉酶和麦芽糖酶的活化和合成增加有关。在萌发后期种子中可溶性糖含量又大幅下降,可能是为了维持种子呼吸消耗以及合成新细胞所需的物质和能量^[15]。对照组的种子可溶性糖含量一直低于处理组,说明经过硫酸锰处理可以促进种子内碳水化合物的运转,为种子萌发提供物质及能量供应。

2.5 硫酸锰处理对黑柴胡种子淀粉酶活性的影响

淀粉是种子内重要的贮藏物质,种子萌发过程中淀

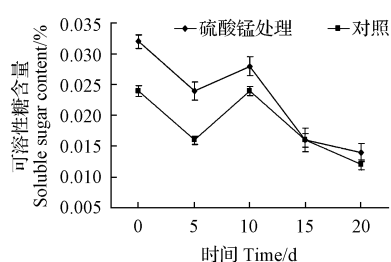


图3 硫酸锰处理对黑柴胡种子可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effect of MnSO_4 soaking on soluble sugar content of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

粉会在淀粉酶的作用下水解为简单的有机物,并运送到幼胚中,作为幼胚生长的营养物质。一般情况下,种子在萌发过程中先激活和释放出束缚态的 β -淀粉酶,它的活性不受RNA或蛋白质合成的抑制剂所抑制。随着呼吸作用的加强,RNA控制的蛋白质合成 α -淀粉酶,由2种酶共同作用催化淀粉的水解。由图4、图5可知,硫酸锰处理及对照种子从萌发开始就具备了较高的 β -淀粉酶活性,但硫酸锰处理 β -淀粉酶活性一直处于上升趋势,而对照处理中 β -淀粉酶的活性在种子萌发前期有小幅下降,而后不断升高。硫酸锰处理的种子 α -淀粉酶的活性从萌发开始到第10天呈上升趋势,之后下降,15 d后又开始上升。对照处理 α -淀粉酶的活性变化与硫酸锰处理基本相同。在种子萌发过程中,硫酸锰处理 α -淀粉酶、 β -淀粉酶的活性高于对照处理,表明硫酸锰处理有利于柴胡种子内淀粉酶的激活,这对萌发初期物质与能量代谢的快速启动和保证顺利发芽有重要作用,是幼苗生长优势的重要生理基础之一。此外,在种子萌发过程中,无论硫酸锰处理还是对照处理, β -淀粉酶的活性均高于 α -淀粉酶的活性,这表明 β -淀粉酶在种子萌发中更为重要,还有待于进一步研究。

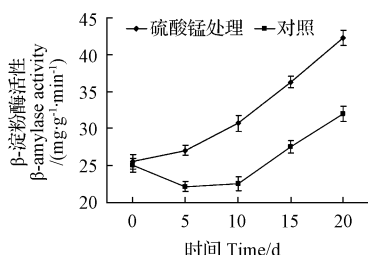
图4 硫酸锰处理对黑柴胡种子 β -淀粉酶活性的影响

Fig. 4 Effect of MnSO_4 soaking on β -amylase activity of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

2.6 硫酸锰处理对黑柴胡种子可溶性蛋白质含量的影响

由图6可知,在种子开始萌发到第10天,处理组的种子的蛋白质含量一直在增加,之后小幅下降,15 d后又又有较大幅度的升高。原因可能是在萌发初期种子内

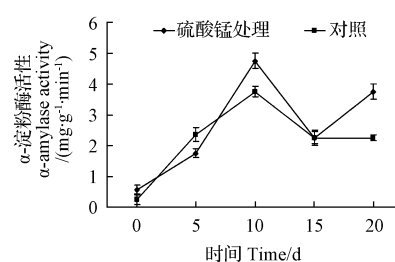
图5 硫酸锰处理对黑柴胡种子 α -淀粉酶活性的影响

Fig. 5 Effect of MnSO_4 soaking on α -amylase activity of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

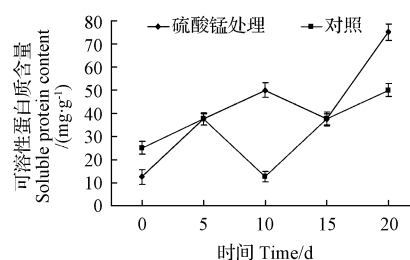


图6 硫酸锰处理对黑柴胡种子可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 6 Effect of MnSO_4 soaking on soluble protein content of *Bupleurum smithii* Wolff. seeds

部会聚集大量蛋白质等营养物质以备萌发所需,所以前一阶段含量是呈上升趋势的;而当种子开始萌发后,体内营养物质开始被分解利用,蛋白质含量即会下降^[17],随后在种子萌发高峰期,种子体内又合成大量新的蛋白质,种子体内蛋白质的含量重新增加。对照可溶性蛋白质含量也呈升高-降低-升高趋势,但其最低值出现在萌发第10天,与硫酸锰处理相比下降时间早、幅度大。植物体内的可溶性蛋白质大多数是参与代谢的酶类,其含量的增加是胚生命活动不断增强的重要指标。硫酸锰处理与对照处理相比,可溶性蛋白质含量较高,因此胚活力更强。

3 讨论

在种子萌发过程中,细胞膜系统在细胞代谢活动中起重要作用。膜结构与功能的稳定主要表现在膜的选择透性上,若种子膜功能减弱,则使细胞内大量物质渗漏,从而降低种子活力。所以种子浸出液电导率的高低可反映细胞膜系统的通透情况,从而反映种子活力的高低。干燥的种子膜系统不完整,所以种子在初始吸胀吸水时会有细胞内溶质渗出,种子在最开始萌发时电导率最高。在种子萌发过程中,随着吸水量的增加,膜系统逐渐被修复,测得的电导率逐渐下降,这说明种子活力在不断增高。该试验中,处理组和对照组的电导率一直在降低,种子的膜系统逐渐被修复,种子活力在不断增高,且处理组的电导率低于对照组,这说明硫酸锰在一

定程度上能减轻种子细胞膜脂过氧化作用,从而修复膜系统,增强种子活力。

从蛋白质含量变化看,柴胡种子萌发过程中蛋白质含量与代谢的变化相协调,这说明萌发过程与蛋白质含量相关。种子萌发初期种子吸水的第一阶段,也就是吸水萌动阶段,体内的生理活动逐渐活跃。蛋白质是亲水性物质,所以不断吸水,使活性增加,种子体内聚集大量蛋白质以备萌发之需。萌发的第10~15天,处在种子吸水萌发的第二阶段,也就是吸水停滞时期,这一时期种子内的代谢旺盛,为了满足它萌发所需,种子体内蛋白质会不断被消耗,所以蛋白质含量在降低,而在种子萌发后期需要结构蛋白,所以内部就会再产生新的蛋白质,因此这个阶段蛋白质含量又有所升高。经过硫酸锰溶液浸泡处理后的种子蛋白质含量明显高于对照,可见硫酸锰处理对种子萌发时所需蛋白质的合成是有利的。

在种子萌发过程中淀粉酶的作用极其重要,其活性直接影响到种子萌发率和萌发时间的长短,而淀粉酶的变化也直接影响着可溶性糖的变化^[15]。种子萌发初期, β -淀粉酶和总淀粉酶的含量都较高,说明干种子就有淀粉酶的存在,这样可以保证种子萌发初期物质与能量代谢的快速启动。在整个萌发过程中,总淀粉酶的活性持续升高,而种子可溶性糖含量在萌发初期到结束整体呈降低趋势,出现此现象原因可能是淀粉被淀粉酶水解成为可溶性糖后被用于呼吸消耗以及不断合成新细胞所必需的蛋白质及纤维素等,并为种子萌发提供能量。这与陶贵荣等^[15]的研究中柴胡种子萌发过程中可溶性糖在柴胡种子萌发阶段呈总体下降趋势,淀粉酶活性总体上升是一致的。而在该试验中,对照组的可溶性糖含量和淀粉酶活性均小于处理组,由此可见硫酸锰处理能诱导淀粉酶活性增强,使可溶性糖含量增加,为种子萌发提供能源和物质基础。

Effect of MnSO_4 Soaking on Germination of *Bupleurum smithii* Wolff. Seeds

ZHANG Sheng-zhen, MA Yan-zhi, JIANG Feng, KE Shao-ying

(Department of Life Science, Tangshan Normal University, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract: Taking *Bupleurum smithii* Wolff. seeds as materials, the effects of MnSO_4 soaking on the seeds germination of *Bupleurum smithii* Wolff. were studied and some physiological characteristics were analyzed. The results showed that, 0.25—1.00 g/L MnSO_4 soaking could improve seeds germination rate and germination potential of *Bupleurum smithii* Wolff. The positive effect of 0.50 g/L MnSO_4 was the best. Compared with the control, the relative electric conductivity was decreased after MnSO_4 soaking, which indicated that MnSO_4 soaking could improve the repairing of membrane. In addition, the respiratory rate, soluble sugar content, soluble protein content, α -amylase activity and β -amylase activity were increased after MnSO_4 soaking, which could provide a better energy and material basis for seeds germination.

Keywords: MnSO_4 ; *Bupleurum smithii* Wolff.; seeds germination; physiological and biochemical index; seed viability

参考文献

- [1] 秦雪梅,王玉庆,岳建英.栽培柴胡资源状况分析[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(8): 30-32.
- [2] 董珍. 柴胡高产栽培技术[J]. 农业科技与信息, 2010(19): 39-40.
- [3] 马宏飞,王玉庆,马小娟. 柴胡种子生物学性状研究[J]. 农学学报, 2011(8): 16-22.
- [4] 王玉庆,牛颜冰,秦雪梅. 柴胡种子处理技术分析[J]. 山西农业大学(自然科学版), 2005, 25(3): 205-206.
- [5] 王秀琴,郑群,艾沙,等. 不同药剂处理对柴胡种子活力的影响[J]. 种子, 2002(2): 23-24.
- [6] 邓友平,赵力强,张立鸣. 沙藏和激素处理对北柴胡和三岛柴胡种子萌发的影响研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(4): 208-210.
- [7] 董汇泽,胡德旺,杨君丽,等. 超声波+赤霉素对柴胡种子萌发及活力的影响[J]. 种子, 2006, 25(3): 66-67.
- [8] 周化斌,姜丹,金卫挺,等. 锰对大豆种子萌发的影响[J]. 种子, 2003, 130(4): 22-23.
- [9] 刘鹏,徐根娣,倪建英. 锰浸种对大豆种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2002, 24(4): 24-28.
- [10] 张永升,杨国航,崔彦红. 硫酸锰浸种处理对玉米种子萌发的生理效应[J]. 河北农业大学学报, 2011, 34(4): 5-9.
- [11] 曹亚军. 微量元素浸种对艳山姜种子发芽的影响[J]. 现代农业科技, 2009(11): 27-28.
- [12] 汪之波,周向军,郝春红. 两种化学试剂对黄芩和柴胡种子萌发的影响[J]. 种子, 2009, 28(6): 63-65.
- [13] 张志良,瞿伟菁,李小方. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 2009.
- [14] 李合生,孙群,赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000(7): 260-261.
- [15] 陶贵荣,齐建红,张金芳. 柴胡种子在萌发过程中淀粉酶和可溶性糖的变化初步研究[J]. 西安文理学院学报(自然科学版), 2009, 12(1): 34-38.
- [16] 张红生,胡晋. 种子学[M]. 北京:科学出版社, 2010.
- [17] 潘瑞炽,王小菁,李娘辉. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 2012.