

桑寄生顽拗性种子发芽影响因素研究

韦树根^{1,2},付金娥¹,潘丽梅¹,马小军²

(1.中国医学科学院药用植物研究所广西分所,广西南宁530023;2.中国医学科学院药用植物研究所,北京100193)

摘要:以桑寄生种子为试材,参考《国际种子检验规程》和《种子学》中种子发芽试验的方法,研究了不同发芽床、不同温度、不同光照、不同抑菌处理及不同批次等对种子发芽的影响。结果表明:种子最佳发芽床是纸床;不同温度处理种子发芽率之间差异显著,最佳发芽温度是25~30℃变温培养;光照对种子的萌发无影响;种子不消毒,用灭菌水处理效果最好;不同批次的种子质量有差异,春季的种子优于秋冬季节的种子。

关键词:桑寄生;发芽;发芽势;温度

中图分类号:R 282.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)14-0155-05

桑寄生(*Taxillus chinensis* (DC.) Danser),植物学名“广寄生”^[1],是传统的常用大宗中药材,

第一作者简介:韦树根(1980-),男,广西灵山人,硕士,副研究员,现主要从事药用植物资源与繁殖及育种等研究工作。E-mail:weishugen2@163.com。

责任作者:马小军(1958-),男,北京人,博士,研究员,博士生导师,现主要从事药用植物遗传育种等研究工作。E-mail:mayixuan10@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81403045,81660637);广西自然基金资助项目(2016GXNSFDA380012,2014GXNSFBA118204);国家科技重大专项中药材种子种苗和种植(养殖)标准平台资助项目(2012ZX09304006)。

收稿日期:2017-02-17

具有补肝肾、祛风湿、强筋骨、安胎等功效^[2],为历版《中国药典》收载药材。全国与桑寄生有关的中成药有几十种,其中2015年版《中国药典》^[2]收载22种,如人参再造丸、平肝舒络丸、孕康合剂、壮骨关节丸、参茸保胎丸、独活寄生合剂、调经促孕丸、清脑治瘫丸、舒筋活络酒、壮骨关节丸等,涉及众多家生产企业,年需求量巨大。

目前桑寄生药材主要以野生资源为主,但由于其寄生于林木、果树等经济林上且影响寄主的生长,人们不得不将其除掉。桑寄生果实为浆果,具有丰富的果肉,在野生状态下其传播与繁殖主要通过一些食果肉鸟吞食果实、消化果肉、排出种子来实现。但由于自然环境遭到破坏,桑寄生自

Abstract: Taking *Ficus tikoua* Bur. as test material, based on the single factor experiment, the ethanol reflux extraction technology of antibacterial substance from *Ficus tikoua* Bur. was optimized by orthogonal experiment. Bacteriostatic effect of the extracts was detected by Oxford Cup method against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, antibacterial effect of *Candida albicans*, and the effect of heat and ultraviolet radiation on its antibacterial activity were also investigated. The results showed that the optimum extraction process of ethanol reflux were 65% ethanol, solid-liquid ratio 1:10 g·mL⁻¹, 0.5 hours heating in 75℃ water bath. The antibacterial effect of the extracts on *Staphylococcus aureus* was the best, and *Candida albicans* had no antibacterial effect. With the increase of the concentration of the extract, its antibacterial effect was enhanced, and it had a certain stability to the heat and ultraviolet radiation.

Keywords: *Ficus tikoua* Bur.; antibacterial substances; orthogonal test; reflux method; antibacterial activity

然繁殖更加困难,致使野生资源大幅减少。因此,为满足市场需求,规范化栽培将是必然选择。桑寄生只能以种子进行繁殖,其新鲜种子发芽率很高,但丧失活力快,推测其为顽拗性种子^[3]。顽拗性种子的特性严重制约桑寄生繁育,必将是其规范化栽培的技术瓶颈。因此,现从不同发芽床、不同温度、不同抑菌处理及不同批次等因素对桑寄生种子发芽的影响进行研究,总结出桑寄生最佳的发芽条件,旨在为桑寄生繁育及栽培提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2013年4月至2014年12月,采集广西药用植物园寄生于人面子树上的桑寄生种子作为试验材料,经中国医学科学院药用植物研究所马小军研究员鉴定为桑寄生(*Taxillus chinensis* (DC.) Danser)植物的种子。

1.2 试验方法

主要参考《国际种子检验规程》^[4]、《种子学》^[5]中种子发芽试验的方法。

1.2.1 不同发芽床的设立

A. 纸间(BP):在12 cm培养皿内垫上2层湿润滤纸,另外用一层湿润滤纸盖在种子上。B. 纸上(TP):在12 cm培养皿内垫上2层湿润滤纸。C. 砂上(TS):将种子压入砂的表面。D. 桑枝:将新鲜的桑枝剪成段状,放入12 cm培养皿中,再将新鲜的种子点播在其上。取洗干净的新鲜种子置于25 ℃光照培养箱中培养,每处理4次重复,每重复100粒种子,保持发芽盒内湿度要求,每日观察并记录各处理种子发芽情况,并随时挑出霉烂种子。

1.2.2 不同温度的设立

将新鲜种子置纸上(TP)发芽床上,每盒20粒,4次重复,分别置于10、15、20、25、30、35、40 ℃6种恒温和25 ℃(16 h)~30 ℃(8 h)条件下进行发芽试验。每日观察并记录各处理种子发芽情况,保持发芽盒内湿度要求,并随时挑出霉烂种子。

1.2.3 不同光照条件的设立

设黑暗及2 000、3 000 lx 3种发芽条件。黑暗处理为将发芽盒用黑布包裹,放入小纸箱中进

行发芽试验。每处理4次重复,每重复100粒。

1.2.4 不同抑菌处理的设立

用自来水、0.5%高锰酸钾、1%升汞、70%乙醇等对种子进行抑菌处理后,于纸上发芽床进行发芽试验。发芽温度25 ℃,每天光照12 h,强度2 000 lx培养35 d。

1.2.5 不同批次种子发芽情况

分别选择采集于春季2014年3月5日、2014年4月13日,秋季2014年10月15日及冬季2014年11月28日、2014年12月26日的5批次种子于纸上发芽床进行不同批次发芽试验。发芽温度25 ℃,每天光照12 h,光照强度2 000 lx。

1.2.6 发芽首次和末次计数时间

将冲洗后的种子置于纸上发芽床的培养皿中,每皿20粒,4次重复,25 ℃培养箱中培养。每天观察并记录种子萌芽情况,随时挑出霉烂种子,保持培养皿温度。当种子发芽率达到50%时的天数为初次计数时间,发芽率达到最高时的天数为末次计数时间。

1.3 数据分析

试验数据采用Microsoft Office Excel进行分析。

2 结果与分析

2.1 发芽床试验

从表1可以看出,不同的发芽床对种子开始萌发的时间和终止发芽时间均差异不大,但对种子的发芽率和发芽势有较大的影响,其中不同发芽床之间种子的发芽率在5%水平上差异显著,而发芽势方面,纸上和桑枝、纸间、砂上处理间达差异显著水平,桑枝和纸间的发芽势差异不显著。纸上的发芽率和发芽势最高,且发霉种子也少。因此,纸上是桑寄生种子发芽试验的最佳发芽床。

2.2 发芽温度试验

2.2.1 温度对桑寄生种子发芽率的影响

温度对桑寄生种子的发芽有重要的影响,其发芽需要一定的温度条件才能进行。从表2可以看出,在25~30 ℃培养的条件下,桑寄生种子的发芽率最高,可达80.00%。在10~40 ℃间,桑寄生种子的发芽率呈先升高后降低的趋势。在10 ℃低温培养条件下其种子不能萌发,而过高的

温度也不利于桑寄生种子发芽,在35℃下发芽率极速降低,发芽率仅为38.25%,当温度达到40℃时,其发芽率降到1.50%。从表2、3可以看出,不同的恒温条件下,种子的发芽率在5%水平上差异显

著,而1%水平上25~30℃与25℃的发芽率差异不显著。过高或过低的温度都不利于桑寄生种子萌发,说明温度都对桑寄生种子发芽非常重要。

表1

不同发芽床种子萌发情况

Table 1

Seed germination of different germination beds

发芽床 Germinating bed	开始发芽时间 Beginning of germination time/d	终止发芽时间 Stopping of germination time/d	发霉种子 Moldy seeds /粒	发芽率 Germination percentage /%	发芽势 Germination energy /%
纸上 Filter paper	10	70	27	73a	35a
桑枝 Mulberry	11	65	40	60b	25b
纸间 Between filter paper	11	65	45	55c	26b
砂上 Sand	12	65	58	42d	21c

注:不同小写字母表示各处理在0.05水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level. The same below.

表2

不同温度对种子发芽率的影响

Table 2

Effects of different temperatures on seed germination

%

重复 Repeat	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃	35℃	40℃	25~30℃
I	0	6	55	74	68	43	1	82
II	0	8	51	78	70	35	2	79
III	0	10	49	73	65	41	0	75
IV	0	8	56	75	63	34	3	84
发芽率 Germination percentage	0gF	8.00FE	52.75dC	75.00bA	66.50cB	38.25eD	1.50gF	80.00aA

表3

不同温度对种子发芽率影响的方差分析

Table 3

Analysis of variance of seed germination rate under different temperature

变异来源 Variation source	自由度 Freedom	平方和 Quadratic sum	均方 MS	F值 F value	F _{0.05}	F _{0.01}
区组间 Between groups	2	16.5	5.5	0.65	3.07	4.87
处理间 Between treatment	2	31.194.5	4.456.36	528.72	2.49	3.64
误差 Error	4	117.0	8.43	—	—	—
Total variation	8	31.388.0	—	—	—	—

2.2.2 温度对桑寄生种子萌发时间的影响

从图1可以看出,30℃和35℃温培养条件下,种子的开始发芽时间最短,均为9 d;其次为25℃和25~30℃,为10 d;15℃恒温培养下种子始发芽时间最长,为35 d。而从整个种子发芽所需时间看,温度由低到高对种子终止发芽的影响呈由长至短的趋势,温度越高发芽越快,终止发芽时间就越短,35℃和40℃终止发芽时间最短,但发芽率很低。

2.2.3 温度对种子发芽势的影响

种子发芽势是指种子发芽初期正常发芽种子数占供试种子数的百分率,种子发芽势高,即表示种子活力强,且发芽整齐度好,出苗一致,增产潜力大。从图2可以看出,种子的发芽势随温度的升高呈先降低后升高的趋势。25~30℃培养下种子的

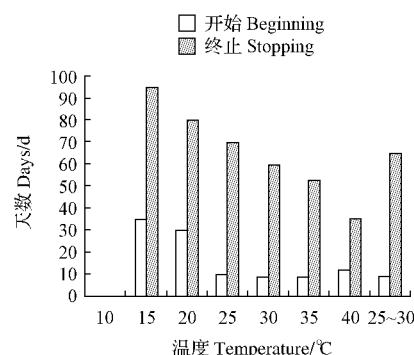


图1 不同温度培养下桑寄生种子萌动过程中始发芽时间和终止发芽时间的变化

Fig. 1 Change of beginning of germination time and stopping of germination time of the termination at different temperatures under the mistletoe seed germinating process

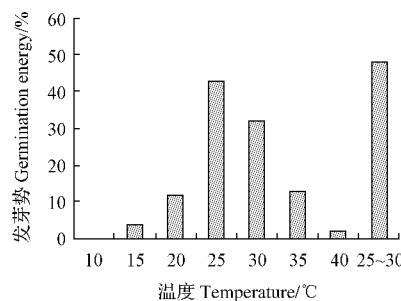


图2 温度对桑寄生种子发芽势的影响

Fig. 2 Effect of temperature on seed germination energy of *Taxillus chinensis* (DC.) Danser

发芽势最高,其次是25℃,但种子在前10 d的发芽较慢,第35天出现发芽高峰,发芽势较高。

2.3 不同光照试验

从表4可以看出,黑暗和光照均不影响桑寄生种子的萌发,不同光照强度对种子的萌发不存在显著影响,3个处理间的发芽率差异不显著。

表4

不同的光照条件下的桑寄生种子发芽情况

Table 4 Under different illumination conditions after seed germination of *Taxillus chinensis* (DC.) Danser

Illumination treatment	重复 Repeat				均值 Average/%
	I	II	III	IV	
黑暗 Dark	81	75	77	73	76.50a
2 000 lx	78	80	75	82	78.75a
3 000 lx	83	79	81	76	79.75a

表5

不同抑菌处理对种子发芽的影响

Table 5

Effects of different antibacterial treatments on seed germination

消毒处理	开始发芽时间	发芽率	发芽势	发霉种子
Disinfection treatment	Beginning of germination time/d	Germination percentage/%	Germination energy/%	Moldy seeds/粒
无菌水 Sterile water	10	76a	37a	14
自来水 H ₂ O	11	69b	36a	21
0.5%高锰酸钾 0.5% KMnO ₄	16	61c	26b	39
1%升汞 1% mercuric chloride	18	58c	28b	42
70%乙醇 70% ethanol	13	56c	21c	44

表6

不同批次种子发芽情况

Table 6

Germination of seeds in different batches

样品	采集时间	开始发芽时间	发芽率	发芽势
Sample	Acquisition time	Beginning of germination time/d	Germination percentage/%	Germination energy/%
批次 1 Batch 1	2014-03-05	10	85a	48a
批次 2 Batch 2	2014-04-13	9	82a	40b
批次 3 Batch 3	2014-10-15	13	78b	38bc
批次 4 Batch 4	2014-11-28	15	75b	38c
批次 5 Batch 5	2014-12-26	14	74c	35c

2.4 不同抑菌处理对种子发芽的影响

从表5可以看出,以无菌水处理的种子发芽率和发芽势最高,发霉种子也较少,与用自来水、0.5%高锰酸钾、1%升汞、70%乙醇等处理的种子发芽率之间差异显著,用消毒液处理的种子开始发芽时间长,发霉种子也多,发芽率和发芽势较低,说明消毒液对桑寄生种子的发芽有很强的抑制作用。

2.5 不同批次种子发芽情况

桑寄生花序为无限花序,一年四季均可以开花,但种子成熟期主要集中在春季的3—4月和冬季的10—12月。从表6可以看出,春季采集种子与冬季采集种子发芽率之间差异显著,所需的开始发芽时间春季的种子也比冬季的短,而春季采集的2批种子发芽率差异不显著,但发芽势差异显著。冬季采集的3批发芽势差异不显著。说明春季采集的种子质量优于秋季采集的种子。

3 讨论与结论

由于桑寄生种子外面包裹一层果胶,不易完全去除,残留的果胶极容易使种子发霉。故在处理桑寄生种子前,应尽量先把种子上包裹的果胶去除干净,减少试验误差。种子的萌发受多种因素的影响,如温度、光照、成熟度等,其中温度是种子主要的影响因素。该试验从不同发芽床、不同温度、不同光照、不同抑菌处理及不同批次种子5个因素对桑寄生种子的发芽条件进行研究,总结出桑寄生最佳的发芽条件,为将来桑寄生繁育及栽培提供理论依据。研究结果表明,桑寄生最佳发芽床是纸床;不同温度处理桑寄生种子发芽率之间差异显著,绝大多数种子在18~32℃发芽率较高^[6],而桑寄生最佳发芽温度是25~30℃变温培养;光照对桑寄生种子的萌发无显著影响;由于桑寄生种子比较容易发霉,桑寄生种子不消毒,用灭

菌水处理效果最好;不同批次的桑寄生种子质量有差异,春季的种子优于秋冬季的种子。因此,桑寄生最佳发芽条件为:采集春季的种子,用灭菌水清洗干净,以灭过菌的滤纸为发芽床,在25~30℃变温光照培养箱下培养。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京科学出版社, 1998: 131.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 299-300.
- [3] 李永华, 卢栋, 朱开昕, 等. 桑寄生野生资源与规范化种植技术[J]. 广西中医药, 2010(1): 53-55.
- [4] 国际种子检验协会. 国际种子检验规程[S]. 颜启传, 毕辛华, 译. 北京: 农业出版社, 1985.
- [5] 颜启传. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 432, 463, 484, 531.
- [6] 肖来云, 普正和. 西双版纳桑寄生植物的繁殖[J]. 云南植物研究, 1989(2): 175-180.

Influencing Factors of Germination to the Seeds of *Taxillus chinensis* (DC.) Danser

WEI Shugen^{1,2}, FU Jin'e¹, PAN Limei¹, MA Xiaojun²

(1. Guangxi Branch of Institute of Medical Plant Development, Chinese Academy of Medical Science, Nanning, Guangxi 530023; 2. Institute of Medical Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193)

Abstract: In this study, reference to the seed germination experiment method of ‘International Seed Inspection Procedures’ and ‘Seed Science’, the effects of different germination beds, different temperatures, different lights, different antibacterial treatments and different batches on seed germination were studied by using *Taxillus chinensis* seeds. The results showed that the seeds of the most suitable germination bed were paper beds; the difference of seed germination rate between different temperature treatments was significant, and the optimum germination temperature was 25—30℃; light had no effect on seed germination; seeds without disinfection, sterilization treatment with the best results. The quality of the seeds of different batches was different, and the spring seeds were better than autumn and winter seeds.

Keywords: *Taxillus chinensis* (DC.) Danser; germination; germination potential; temperature