

杨海婧,田 丰,马永清,等. 小麦、蚕豆和油菜浸提液对秦艽种子萌发的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(5):145-148.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.05.041

小麦、蚕豆和油菜浸提液对秦艽种子萌发的影响

杨海婧¹, 田 丰¹, 马永清², 王 煥³, 徐宗才¹, 李永平¹, 马正华¹, 刘丽颖⁴

(1. 青海大学农牧学院, 青海西宁 810016; 2. 西北农林科技大学水土保持研究所, 陕西杨凌 712100;

3. 西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌 712100; 4. 青海省药品检验检测院, 青海西宁 810016)

摘要:研究小麦、蚕豆和油菜的茎、叶的阴干样品浸提液、根系分泌物对秦艽种子萌发的影响。利用蒸馏水和甲醇浸提小麦、蚕豆、油菜的茎叶阴干样品获取秦艽种子萌发刺激物,用乙酸乙酯萃取农作物根系分泌物,再用丙酮浸提获取秦艽种子刺激物,分别处理秦艽种子进行种子发芽试验,测定不同处理的秦艽种子发芽率和秦艽种子胚根长。结果表明:小麦茎叶的阴干样品水浸提液和甲醇浸提液对秦艽种子萌发及胚根生长有较弱的抑制作用,小麦根系分泌物对秦艽种子萌发及胚根生长有一定的促进作用;蚕豆茎叶的阴干样品水浸提液和甲醇浸提液及根系分泌物均对秦艽种子萌发及胚根生长有较弱的抑制作用,油菜茎叶的阴干样品水浸提液和甲醇浸提液及根系分泌物均对秦艽种子萌发及胚根生长有较强的抑制作用。随着稀释倍数的增加、阴干样水浸提液抑制秦艽种子发芽作用降低。

关键词:农作物;浸提液;根系分泌物;秦艽;萌发率;胚根长;化感作用

中图分类号:S567.23+9.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)05-0145-04

秦艽(*Gentiana macrophylla* Pall)为龙胆科(*Gentianaceae*)龙胆属(*Gentiana*)秦艽组(*Sect. Cruciata Gaudin*)多年生草本植物^[1],主要分布在中国西北部^[2];味苦、辛平,性微寒,有祛风湿、止痹痛、清湿热的功效,用于风湿痹痛、筋脉拘挛、湿热黄疸等病症,为祛风湿清热之首药^[3-4]。由于大量采集野生秦艽,导致野生秦艽迅速消减^[5]、野生秦艽资源匮乏^[6]。秦艽的人工栽培迫在眉睫,将秦艽与农作物进行套种是秦艽人工栽培的一个重要方法。近年来,化感作用研究也得到了迅速发展,并在生产实践中加以应用^[7-8],有些植物分泌物中生物活性物质有利于其他某些植物对营养元素的吸收,从而促进其生长^[9]。将秦艽套种于春小麦(*Triticum aestivum* L.)、春蚕豆(*Vicia faba* L.)和春油菜(*Brassica campestris* L.)田中,发现小麦套种田的秦艽出苗率高,而蚕豆、油菜田的秦艽出苗率极低,甚至为零^[10]。目前只见到了麻花秦艽(*Gentiana straminea* Maxim)浸提液对紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)的抑制作用较小麦强,麻花秦艽叶浸提液的抑制作用较根强^[11],尚未发现小麦、油菜及蚕豆对秦艽种子萌发及幼苗生长影响的报道。

研究小麦、油菜及蚕豆对秦艽种子萌发的化感作用,可以优选适宜与秦艽套种的农作物,指导秦艽的人工栽培技术,丰富禾本科、十字花科、豆科作物与龙胆科植物的化感理论,对增加农民收入和保护生态环境都具有重要的意义。

1 材料与与方法

收稿日期:2016-01-01

基金项目:青海省科技厅项目(编号:2014-ZJ-758)。

作者简介:杨海婧(1990—)女,青海黄南人,硕士研究生,研究方向为作物栽培。E-mail:17709787223@163.com。

通信作者:田 丰,教授,研究方向为作物栽培。E-mail:qhdx111tianfeng@sina.com。

1.1 试验材料

本试验的供体小麦品种为阿勃、蚕豆品种为青蚕 11 号、油菜品种为青杂 3 号;受体植物为大叶秦艽,由青海大通药材种植园提供。

1.2 试验设计

试验采用二因素完全随机设计,因素 A 为农作物:A1 小麦,A2 蚕豆,A3 油菜;因素 B 为浸提液稀释倍数:B1 清水对照,B2 原液,B3 稀释 10 倍液,B4 稀释 100 倍液。

1.3 试验方法

1.3.1 秦艽种子表面消毒 将秦艽种子用 1% (体积分数)次氯酸钠溶液在超声波清洗器中处理 3 min,采用灭菌蒸馏水清洗后再用 75% (体积分数)乙醇超声 1 min,然后用蒸馏水冲洗至无色,晾干备用。在培养皿内(直径 90 mm,高 20 mm)铺双层滤纸,加入适量蒸馏水,然后在滤纸上均匀铺直径 10 mm 的玻璃纤维滤纸(whatman GF/A)约 60 张,将表面消毒晾干后的秦艽种子均匀撒到玻璃纤维滤纸片上,每张 25 ~ 45 粒,在 25 °C 的黑暗条件下备用。

1.3.2 发芽试验

1.3.2.1 水浸提试验 将开花期的小麦、油菜、蚕豆茎叶分别阴干后粉碎过 0.45 mm 的筛。分别称取 3 种农作物茎叶粉碎样 1.0 g 于三角瓶中,加入 10 mL 灭菌蒸馏水,置于超声波清洗机中超声 30 min,超声后的溶液用滤纸过滤,取上清液为原液,用灭菌蒸馏水稀释 10 倍和 100 倍液待用,即为第 1 次浸提液的不同浓度液。在直径 90 mm 的培养皿中,边缘摆放含秦艽种子的玻璃纤维滤片,中间放置 1 个保湿的三角滤纸片,用移液枪吸取以上 3 种浓度 100 μL 浸提液加到种子上,每个浓度 4 次重复。用 Parafilm 封口膜将培养皿密封,在 25 °C 黑暗培养箱内培养 13 d,在显微镜下观察秦艽种子发芽率和胚根长,以灭菌蒸馏水处理作为对照。

1.3.2.2 甲醇浸提试验 甲醇浸提方法应将溶液加到空白的玻璃纤维滤片上,待甲醇蒸发完后再叠放 1 层带有种子的

玻璃纤维滤片,再给种子加 200 μL 的蒸馏水。其余步骤与水浸提相同。

1.3.2.3 乙酸乙酯萃取水培根系分泌物试验 根系分泌物的收集:将供试的小麦、蚕豆和油菜种子采用和秦艽相同的方法进行表面消毒,晾干分别放置小麦 400 粒、蚕豆 200 粒、油菜 400 粒,在豆芽机(康源牌自动豆芽苗菜机)中进行培养,待各农作物发芽长根时开始,每隔 3 d 放入等量的活性炭(100 g 用纱布包裹),共收集 3 次。根系分泌物的萃取分离:参考贺峰等的方法^[12],将活性炭取出,过滤除去水分,放入烧杯中,加入丙酮(丙酮的量须淹没过活性炭顶部),将烧杯放入超声清洗机中超声 3 min,取出后用布氏漏斗进行抽滤(1~2 次)。将滤液经旋转蒸发仪(ER-52A,上海亚荣生化仪器场)减压浓缩,浓缩物先用蒸馏水溶解,得到 50 mL 水溶液,倒入分液漏斗中,少量不溶于水的物质用乙酸乙酯溶解后倒入分液漏斗中。按乙酸乙酯与蒸馏水 1:1 的比例萃取 3 次。将得到的乙酸乙酯相液合并,无水硫酸钠除去多余水分,经旋转蒸发仪蒸干,获得供试的乙酸乙酯提取物(小麦 155.0 mg,蚕豆 264.0 mg,油菜 66.0 mg)。将 5 mL 丙酮加入乙酸乙酯提取物并超声 30 s 左右后,得到干物质浸提液,干物质浸提液做秦艽种子发芽试验。以蒸馏水处理作为对照。

1.4 指标测定和数据处理

1.4.1 发芽指标测定 将秦艽种子培养 13 d 统计发芽率(GR)=(萌发的种子数/播种数)×100%。

1.4.2 生长指标 发芽试验结束后,采用常规测量方法测量每皿萌发的秦艽种子的胚根长。然后将发芽率和根长转化为化感效应指数 RI 值后进行比较,RI 值的计算公式如下:

$$RI = \begin{cases} 1 - C/T & (T \geq C) \\ T/C - 1 & (T < C) \end{cases}。$$

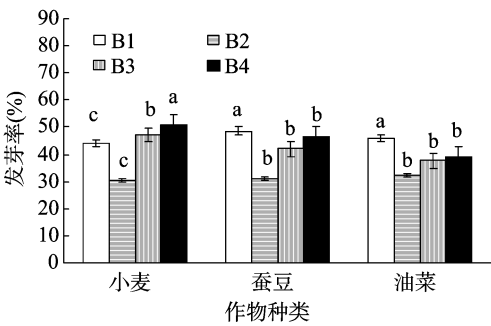
式中:C 为对照值,T 为处理值,RI>0 表示促进作用,RI<0 表示抑制作用,其绝对值的大小与作用强度呈正比例关系^[13]。所有试验数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,应用 Excel 2007 及 DPS 7.05 软件对其进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 不同农作物茎叶阴干样水浸提液对秦艽种子发芽的影响

对不同农作物茎叶阴干样的水浸提液处理下的秦艽种子发芽率及胚根长进行方差分析结果见图 1、图 2。计算出相应的 RI 值见表 1、表 2。

由图 1、表 1 可以看出,在浸提液相同浓度下,小麦阴干样水浸提液处理的秦艽种子发芽率最高,蚕豆次之,油菜最低。3 种农作物原液处理的秦艽种子发芽率最低,10 倍液次之,100 倍液最高。RI 值反映了不同处理指标值增减的相对值。小麦原液处理的秦艽种子发芽率低于对照,10 倍液、100 倍液高于对照,蚕豆和油菜不同浓度处理的秦艽种子发芽率均低于对照。小麦对秦艽种子萌发的化感指数与蚕豆、油菜有显著差异。说明小麦茎叶阴干样水浸提液对秦艽种子发芽的影响表现出高浓度抑制、低浓度促进的规律,蚕豆和油菜对秦艽种子萌发有抑制作用,油菜的抑制作用最强,并表现出随着稀释倍数的增加茎叶阴干样水浸提液抑制秦艽种子发芽作



柱上不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。下同
图1 不同农作物茎叶阴干样水浸提液处理秦艽种子发芽率

表 1 不同农作物茎叶阴干样水浸提液刺激秦艽种子发芽率 RI 值

作物	秦艽种子发芽率 RI 值				平均值
	B1	B2	B3	B4	
小麦	0	-0.31	0.07	0.14	-0.03a
蚕豆	0	-0.37	-0.13	-0.04	-0.14b
油菜	0	-0.29	-0.18	-0.14	-0.15b

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。下同。

用降低的规律。

图 2、表 2 表明,在浸提液相同浓度下,小麦处理的秦艽种子胚根最长,蚕豆次之,油菜最低。3 种农作物原液处理的秦艽种子胚根最短,小麦、蚕豆 10 倍液次之,100 倍液最高,油菜的 10 倍液高于 100 倍液。小麦原液处理的秦艽种子胚根长低于对照,10 倍液的胚根长与对照持平,100 倍液高于对照,蚕豆和油菜不同浓度处理的秦艽种子胚根长均低于对照。小麦对秦艽胚根生长的化感指数与蚕豆无显著差异,与油菜有显著差异。说明小麦茎叶阴干样水浸提液对秦艽种子胚根生长的影响表现出高浓度抑制、低浓度促进的规律,蚕豆和油菜对秦艽种子萌发有抑制作用,油菜的抑制作用强于蚕豆和小麦,并表现出随着稀释倍数的增加茎叶阴干样水浸提液抑制秦艽种子胚根生长作用降低的规律。

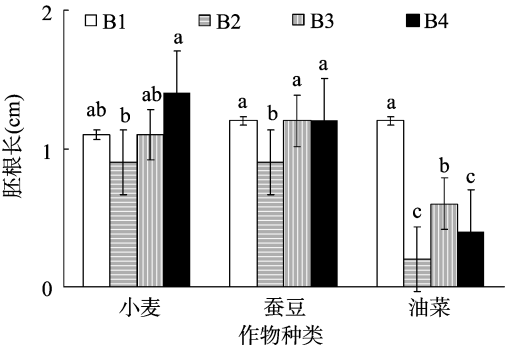


图2 不同农作物茎叶阴干样水浸提液处理秦艽种子胚根长

表 2 不同农作物茎叶阴干样水浸提液刺激秦艽种子胚根长 RI 值

作物	秦艽种子胚根长 RI 值				平均值
	B1	B2	B3	B4	
小麦	0	-0.12	0	0.78	0.16a
蚕豆	0	-0.28	-0.06	-0.01	-0.09a
油菜	0	-0.85	-0.52	-0.64	-0.50b

2.2 不同农作物茎叶阴干样甲醇浸提液对秦艽种子发芽的影响

方差分析不同农作物茎叶阴干样的甲醇浸提液处理下的秦艽种子发芽率及胚根长结果见图 3、图 4，计算出相应的 *RI* 值见表 3、表 4。

图 3、表 3 表明，小麦茎叶阴干样甲醇浸提液处理的秦艽种子发芽率最高，蚕豆处理次之，油菜处理最低；3 个农作物茎叶阴干样甲醇浸提液原液处理的秦艽种子的发芽率最低，10 倍液次之，100 倍液最高；小麦对秦艽种子萌发的化感指数与蚕豆、油菜有显著差异。说明小麦茎叶阴干样对秦艽种子萌发的影响表现出高浓度抑制、低浓度促进，但影响强度较小；蚕豆的阴干样甲醇浸提液对秦艽种子萌发有一定的抑制作用，油菜的阴干样甲醇浸提液对秦艽种子萌发的抑制作用最强；随着稀释倍数的增加抑制秦艽种子发芽作用降低。

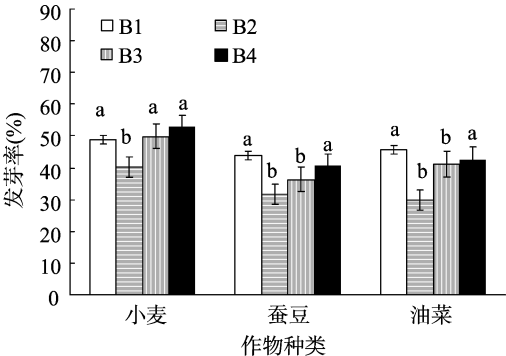


图3 不同农作物茎叶阴干样甲醇浸提液处理秦艽种子发芽率
表 3 不同农作物茎叶阴干样甲醇浸提液刺激秦艽种子发芽 *RI* 值

作物	秦艽种子发芽率 <i>RI</i> 值				
	B1	B2	B3	B4	平均值
小麦	0	-0.17	0.02	0.08	-0.02a
蚕豆	0	-0.28	-0.17	-0.08	-0.18b
油菜	0	-0.34	-0.07	-0.10	-0.17b

图 4、表 4 表明，3 种农作物茎叶阴干样甲醇浸提液原液处理的秦艽种子胚根长最短，与 10 倍液、100 倍液及清水对照的秦艽种子胚根长有显著差异，10 倍液、100 倍液及清水对照的秦艽种子胚根长之间没有显著差异。小麦对秦艽胚根生长的化感指数与蚕豆、油菜有显著差异。说明 3 种农作物茎叶阴干样甲醇浸提液对秦艽种子胚根生长的影响表现出高浓度抑制、低浓度促进的规律；小麦的抑制作用最小，蚕豆次之，油菜的抑制作用最强。

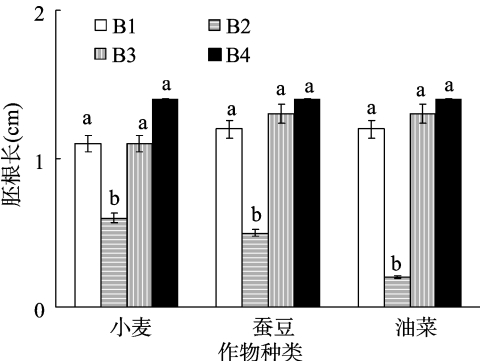


图4 不同农作物茎叶阴干样甲醇浸提液处理秦艽种子胚根长

表 4 不同农作物茎叶阴干样甲醇浸提液刺激秦艽种子胚根长 *RI* 值

作物	秦艽种子胚根长 <i>RI</i> 值				
	B1	B2	B3	B4	平均值
小麦	0	-0.45	0.01	0.24	-0.05a
蚕豆	0	-0.56	0.07	0.14	-0.09ab
油菜	0	-0.86	0.09	0.18	-0.59b

2.3 乙酸乙酯萃取农作物根系分泌物干物质水溶液对秦艽种子发芽的影响

方差分析乙酸乙酯萃取农作物根系分泌物丙酮浸提液处理后的秦艽种子的发芽率及胚根长，结果见图 5、图 6，计算出相应的 *RI* 值见表 5、表 6。

图 5、表 5 表明，小麦根系分泌物丙酮提取液 100 倍液处理的秦艽种子发芽率最高，与原液和对照有显著差异；蚕豆根系分泌物丙酮提取液各浓度及对照之间的秦艽种子发芽率没有显著差异；油菜根系分泌物丙酮提取液各浓度处理的秦艽种子发芽率与对照均有显著差异；小麦根系分泌物丙酮提取液刺激的秦艽种子发芽率的 *RI* 值小麦平均为 0.07，蚕豆 *RI* 值为 -0.11，油菜 *RI* 值为 -0.65。小麦对秦艽种子萌发的化感指数与蚕豆无显著差异，与油菜有显著差异。说明小麦根系分泌物丙酮提取液对秦艽种子萌发有微弱的促进作用，蚕豆根系分泌物丙酮提取液对秦艽种子萌发有较低的抑制作用，油菜根系分泌物丙酮提取液对秦艽种子萌发有较强的抑制作用。

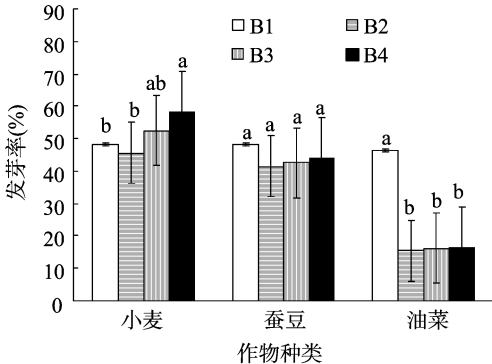


图5 不同农作物根系分泌物丙酮提液处理秦艽种子发芽率

表 5 根系分泌物丙酮提取液经过乙酸乙酯萃取后刺激秦艽种子发芽率 *RI* 值

作物	秦艽种子发芽率 <i>RI</i> 值				
	B1	B2	B3	B4	平均值
小麦	0	-0.05	0.08	0.17	0.07a
蚕豆	0	-0.14	-0.12	-0.08	-0.11a
油菜	0	-0.67	-0.65	-0.64	-0.65b

图 6、表 6 表明，小麦根系分泌物丙酮提取液原液刺激的秦艽种子的种子胚根长与对照及稀释液均无显著差异；蚕豆根系分泌物丙酮提取液原液处理的秦艽种子胚根长与对照及稀释液均有显著差异；油菜根系分泌物丙酮提取液原液及其稀释液处理的秦艽种子胚根长与对照均有显著差异。小麦 *RI* 值平均为 -0.01，蚕豆 *RI* 值为 -0.03，油菜 *RI* 值为 -0.57。小麦对秦艽胚根生长的化感指数与蚕豆、油菜有显著差异，蚕豆与油菜亦有显著差异。说明小麦根系分泌物提

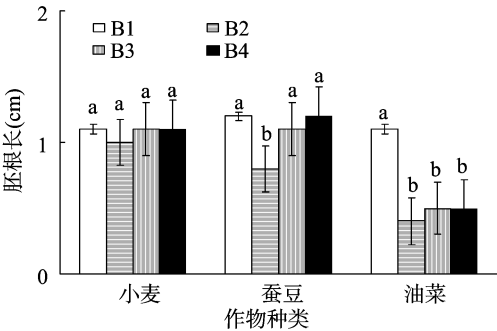


图6 不同农作物根系分泌物丙酮浸提液处理秦艽种子胚根长

表 6 不同农作物乙酸乙酯萃取根系分泌物
丙酮提取液刺激秦艽种子胚根长 RI 值

作物	秦艽种子胚根长 RI 值				平均值
	B1	B2	B3	B4	
小麦	0	-0.04	0	0	-0.01a
蚕豆	0	-0.05	-0.08	0.01	-0.03b
油菜	0	-0.64	-0.54	-0.58	-0.57c

取液对秦艽种子胚根生长的抑制作用最小,蚕豆抑制作用较强,油菜的抑制作用最强。

3 讨论和结论

分别利用小麦、蚕豆、油菜的茎叶阴干样品的蒸馏水、甲醇浸提液及其稀释液,根系分泌物浸提液及稀释液处理秦艽种子,测定秦艽种子的发芽率及秦艽种子胚根长,可以克服大田中小麦、蚕豆、油菜套种秦艽后,秦艽种子萌发及幼苗生长时的光、温、水等生态因子的影响,能准确测定出小麦、蚕豆、油菜对秦艽种子化感作用的影响。秦艽属半阴性植物^[14],种子细小,千粒质量 0.25 ~ 0.3 g,1 年后秦艽种子生活力显著下降^[15-17],利用当年的秦艽种子作为受体是进行发芽试验的关键。

综合分析小麦、蚕豆及油菜茎叶阴干样水浸提液及其稀释液和甲醇浸提液及其稀释液,乙酸乙酯萃取小麦、蚕豆及油菜根系分泌物丙酮浸提液及其稀释液,处理秦艽种子后秦艽种子的发芽率及胚根生长的差异,可以比较全面地反映小麦、蚕豆及油菜对秦艽的化感作用。

利用油菜、蚕豆的茎叶阴干样的水浸提液和甲醇浸提液处理秦艽种子的结果与用乙酸乙酯萃取农作物根系分泌物丙酮浸提液处理秦艽种子的结果是相同的。利用小麦的茎叶阴干样的水浸提液和甲醇浸提液处理秦艽种子表现为较弱的抑制作用,而用乙酸乙酯萃取农作物根系分泌物丙酮浸提液处理秦艽种子表现为较弱的促进作用。2 种方法的结果虽然不是完全一致(因为小麦茎叶阴干样的水浸提液和甲醇浸提液

与小麦根系分泌物的丙酮浸提液成分差异较大),但影响较弱是一致的。因此,小麦对秦艽的种子萌发的影响较小。这是造成小麦套种田的秦艽出苗率高,而蚕豆、油菜田的秦艽出苗率极低^[10]的重要原因之一。

参考文献:

[1] 朱 强,李小龙,郑紫燕,等. 药用植物秦艽的研究概述[J]. 农业科学研究,2008,29(3):62-65,80.

[2] Chen L,Chen Q,Xu D,et al. Changes of gentiopicroside synthesis during somatic embryogenesis in *Gentiana macrophylla* [J]. *Planta Medica*,2009,75(15):1618-1624.

[3] 卿德刚,倪 慧,贾晓光,等. 西部资源秦艽的研究进展及新疆地产秦艽的开发前景[J]. 新疆中医药,2004,22(3):60-62,封3.

[4] 张西玲,晋 玲,刘丽莎. 近 10 年秦艽、麻花艽研究概况[J]. 中国中医药信息杂志,2003,10(1):62-63.

[5] Tang J,Yang Y,Li M,et al. Research of botanical resources and utilization of *Gentiana macrophylla* in Liupan Mountain [J]. *The Journal of Agricultural Science*,2006,27:59-62.

[6] 王 笠,许 亮. 麻花艽的研究进展[J]. 中国民族民间医药,2015(6):17-19.

[7] 张晓珂,姜 勇,梁文举,等. 小麦化感作用研究进展[J]. 应用生态学报,2004,15(10):1967-1972.

[8] 王玉彦,吴凤芝. 间混套作中的化感作用及其研究方法[J]. 北方园艺,2009(8):136-139.

[9] 王延鹏. 植物间化感作用研究概况[J]. 山东林业科技,2008,38(3):84-88.

[10] 李永平,田 丰,李福安,等. 不同套种作物对麻花艽生长的影响[J]. 北方园艺,2014(1):156-158.

[11] 许可成,魏小红,赵 萌,等. 麻花秦艽水浸提液对紫花苜蓿和小麦种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 草业科学,2015,32(3):413-420.

[12] 贺 锋,陈辉蓉,吴振斌. 植物间的相生相克效应[J]. 植物学通报,1999,16(1):19-27.

[13] Williamson G B,Richardson D. Bioassays for allelopathy:measuring treatment responses with independent controls [J]. *J Chem Ecol*,1988,14(1):181-187.

[14] 张玉云. 浅析影响秦艽移栽成活率的因素[J]. 甘肃农业,2006(11):374.

[15] 杨昌武,李季花,刘伟莉. 秦艽栽培技术[J]. 云南农业科技,2007(6):45-46.

[16] 路 奎,王国祥,彭云霞,等. 不同栽培年限和采收期对小秦艽种子萌发特性的影响[J]. 浙江农业科学,2014(5):661-663.

[17] Xue S H,Luo X J,Wu Z H,et al. Cold storage and cryopreservation of hairy root cultures of medicinal plant *Eruca sativa* Mill. ,*Astragalus membranaceus* and *Gentiana macrophylla* Pall [J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult*,2008,92(3):251-260.