

· 中药农业 ·

脉冲辐射与表面活性剂处理对甘草种子发芽的影响[△]郭慧佳¹, 施露², 王文端¹, 侯俊玲^{1,3*}

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 2. 北京中医药大学 东方学院, 河北 廊坊 065001;

3. 中药材规范化生产教育部工程研究中心, 北京 100102)

[摘要] 目的: 通过比较脉冲辐射、表面活性剂、氢氧化钠及浓硫酸处理对甘草种子发芽影响, 探究找出甘草种子预处理的最佳方式。方法: 以浓硫酸处理为对照组, 分别使用 RS-1 数字编码脉冲处理仪的高、低档位辐射甘草种子, 进行发芽率测定实验。以浓硫酸处理、氢氧化钠处理和去离子水处理的甘草种子为对照。使用 SDS 十二烷基硫酸钠, 3-磺丙基十二烷基甜菜碱, 苯扎氯铵, 吐温-80 四种不同种类表面活性剂处理甘草种子, 进行发芽率测定实验。结果: 脉冲处理的 3 种甘草种子, 种子发芽率均高于自然发芽率。特别是利用高档位脉冲处理的不同甘草种子发芽率和发芽势与浓硫酸处理组无显著性差异。表面活性剂处理的甘草种子发芽率普遍高于自然发芽率, 但发芽率显著低于浓硫酸处理组, 除苯扎氯铵组外, 其余各表面活性剂处理组发芽率与去离子水处理组无显著差异。结论: 处理甘草种子时, 可以考虑通过使用高档位脉冲辐射处理作为替代浓硫酸处理的一种方式。这样不仅能减少浓硫酸导致的环境污染, 还能降低处理成本。而用表面活性剂 SDS 十二烷基硫酸钠, 3-磺丙基十二烷基甜菜碱, 苯扎氯铵, 吐温-80 处理组提高甘草种子发芽率的效果不显著。

[关键词] 脉冲辐射; 表面活性剂; 浓硫酸; 甘草种子; 发芽率; 发芽势; 发霉率

Effect of Pulse Radiation and Surfactant Treatment on Seed Germination of *Glycyrrhiza*GUO Huijia¹, SHI Lu², WANG Wenduan¹, HOU Junling^{1,3*}

(1. School of Chinese Materia Medica Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Dongfang College of Beijing University of Chinese Medicine, Langfang 065001, China;

3. Engineering Research Center of Good Agricultural Practice for Chinese Crude Drugs, Ministry of Education, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** By contrast the influences of pulse radiation treatment, surfactant treatment, sodium hydroxide treatment and sulfuric acid treatment on *glycyrrhiza* seed germination, to find the best way to improve the rate of *glycyrrhiza* seed germination. **Methods:** Specific methods is to use RS-1 digital encoder pulse radiate *glycyrrhiza* seed, which is divided into high level and low level, set the sulfuric acid treatment as the control group. Using SDS sodium dodecyl sulfate, dodecyl 3-sulfopropyl betaine, benzalkonium chloride, Tween-80 four different types of surfactant treatment of *glycyrrhiza* seeds and the sulfuric acid treatment, sodium hydroxide treatment and deionized water treatment of *glycyrrhiza* seeds as the control group, to do the measurement experiment of germination rate. **Results:** The results showed that the three kinds of *glycyrrhiza* seeds processed by the pulse radiation treatment, their germination rate are higher than the natural rate of germination. Especially the *glycyrrhiza* gets higher rate of seed germination after processed by high-grade pulse, which is almost the same as the results after processed by sulfuric acid. Seeds germination rate of surfactant treatment is generally higher than the natural germination rate, but obviously lower than the seed of sulfuric acid treatment. Except the results of benzalkonium chloride treatment, other surfactant treatments' results do not have disparity between the result of deionized water treatment. **Conclusion:** Therefore, the *glycyrrhiza* may can high level pulse radiate seed method as an instead of sulfuric acid method for processing seeds method. This method not only reduces sulfuric acid's pollution of the environment, but also can reduce processing costs. The SDS surfactant sodium dodecyl sulfate, sodium dodecyl 3-sulfopropyl betaine, benzalkonium chloride, Tween-80 treatment increased germination effects are not significant.

[Keywords] Pulse radiation; surfactant; sulfuric acid; *glycyrrhiza* seed; germination rate; germinability; moldy

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.1.021

[△] [基金项目] 2015 年北京市共建项目(BJGJ1532)

* [通信作者] 侯俊玲, 教授, 研究方向: 药用植物栽培与遗传育种; Tel: (010)84738637, E-mail: mshjl@126.com

甘草为豆科(Leguminosae)甘草属 *Glycyrrhiza* 多年生草本植物^[1], 甘草系国家二类保护植物, 以根和根茎入药, 具有补脾益气、止咳祛痰、清热解毒、缓急镇痛、调和诸药的功能^[2]。甘草在干旱地、沙漠、盐碱荒地都能生长, 投入少, 产量高, 经济效益十分可观^[3]。但甘草种子皮质硬实, 因透水性差, 自然发芽率仅为 10%~20%^[4]。因此播种前对甘草种子进行适当处理至关重要。

目前国内外研究对甘草种子的处理主要有两种方式: 碾压处理与浓硫酸处理。两种处理方式虽然能够提高种子的发芽率, 但也存在弊端。碾压处理不仅费时且种子损毁率较大; 浓硫酸处理易污染环境且操作危险、成本高。如今, 关于甘草种子处理的研究主要集中在浓硫酸的浓度及时间梯度方面, 目前尚未见到有关表面活性剂及脉冲辐射处理对甘草发芽影响方面的研究。

在植物育种中, 辐射诱变技术应用广泛。辐射诱变技术具有突变率高^[5]、突变谱宽、后代性状稳定快、育种周期短、增强抗逆性等优点^[6-8]。因此, 本课题通过研究脉冲辐射与表面活性剂处理对甘草种子发芽率的影响, 探索促进甘草种子发芽的较佳处理方式。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 种子分别来自甘肃省酒泉市瓜州县河东乡与内蒙古包头市土默特右旗海子乡(分别简称甘肃甘草、内蒙甘草); 胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Batalin 种子来自甘肃省酒泉市瓜州县河东乡。以上材料经中国医学科学院药用植物研究所王文全教授鉴定物种分别为甘草、胀果甘草。

脉冲处理仪选用自制 RS-1 数字编码脉冲处理仪, 由北京中医药大学侯俊玲教授提供。表面活性剂为: SDS 十二烷基硫酸钠, 3-磺丙基十二烷基甜菜碱, 苯扎氯铵, 吐温-80。浓硫酸、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 脉冲辐射处理甘草种子实验 种子处理方法: 选取移栽 8 年生甘草种子(简称移 8); 内蒙包头中兴甘草种子(简称中兴); 胀果甘草种子(简称胀果)三种甘草种子。将上述三种甘草种子各分成三个组,

每组使用 100 颗种子(所有试验种子均已经过百粒重、发芽势等指标分析, 无明显差异)。第一组用 98% 的浓硫酸浸泡 60 分钟处理种子(文献证明 60 分钟效果最佳^[9]), 然后清水清洗干净备用; 第二组用 RS-1 数字编码脉冲处理仪的低档位脉冲辐射甘草种子 30 分钟(按照脉冲处理仪规定); 第三组用 RS-1 数字编码脉冲处理仪的高档位脉冲辐射甘草种子 30 分钟(同上)。

种子发芽方法: 将处理过的甘草种子均匀放在培养皿中, 皿内以三层滤纸作为发芽床, 加入适量水, 放在 25℃ 温度的恒温箱内培养。每天换水 2 次, 记录发芽数 1 次(以芽达 0.2 cm 作为萌芽标志)。连续 3 d 发芽种子数无增长, 视为发芽完全, 并计算发芽率^[10]。本次实验记录为 8 d。每个处理设置 4 个重复, 最后计算发芽特性时取平均值。本次实验处理种子观测时间为 10 d。

1.2.2 表面活性剂处理甘草种子实验 选用新疆甘草种子, 将种子分为十五组。每组分别用去离子水; 浓硫酸(浓度为分析纯); 氢氧化钠(浓度 250 mmol·L⁻¹); SDS 十二烷基硫酸钠(浓度 6.9 mmol·L⁻¹); 3-磺丙基十二烷基甜菜碱(浓度 0.089 mmol·L⁻¹); 苯扎氯铵(浓度 50 g·L⁻¹); 吐温-80(浓度 100 g·L⁻¹); 四种表面活性剂(上述浓度)+浓硫酸(浓度为分析纯); 四种表面活性剂(上述浓度)+氢氧化钠(浓度 250 mmol·L⁻¹)处理种子。

为保证浸泡时间不变, 具体处理方法为: 浓硫酸组浸泡种子时间是 1 h 后换用去离子水浸泡 23 h; 去离子水组浸泡时间是 12 h 后更换去离子水再浸泡 12 h; 氢氧化钠组和四种表面活性剂组浸泡时间均是 12 h, 然后再换为去离子水再浸泡 12 h; 表面活性剂加酸组为浓硫酸浸泡 1 h 后换表面活性剂浸泡 12 h 后再换去离子水浸泡 11 h; 表面活性剂加碱组为氢氧化钠浸泡 12 h 后表面活性剂浸泡 12 h。将处理后的种子按照 1.2.1 节所述发芽方法进行。每个处理设置 3 个重复, 最后计算发芽率。本次实验处理种子观测时间为 15 d。

1.3 统计分析

对实验数据统计并进行正态分布检验、方差分析等数据分析。应用 SAS 9.0 及 Excel 2007 等软件完成数据处理和作图。各指标计算公式分别为:

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{发芽种子数}}{\text{供测样品种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽势}(\%) = \frac{\text{发芽种子数(前3天)}}{\text{供测样品种子数}} \times 100\% [11]$$

$$\text{发霉率}(\%) = \frac{\text{发霉种子数}}{\text{供测样品种子数}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 脉冲辐射对甘草种子发芽的影响

脉冲辐射处理甘草种子实验的实验结果如图 1 所示, 其中移 8 表示用浓硫酸处理的移 8 种子; 低移 8 表示用 RS-1 数字编码脉冲处理仪低档位辐射处理移 8 甘草种子; 高移 8 表示用 RS-1 数字编码脉冲处理仪高档位辐射处理移 8 甘草种子。胀果种子和中兴种子表示方法以此类推。

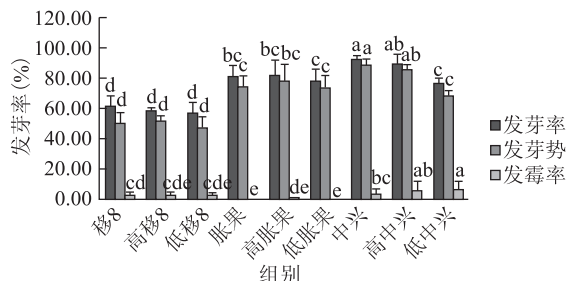


图 1 浓硫酸、高档位、低档位脉冲处理种子实验结果对照图

分析数据可知: 发芽率方面, 脉冲处理对不同甘草种子的发芽率的影响各异。总体来说, 利用高档位脉冲处理可以提高不同甘草种子发芽率且与浓硫酸处理组相比无显著差异。经不同方式处理后, 胀果甘草种子和中兴甘草种子的发芽率均普遍高于移 8 甘草种子的发芽率。移 8 甘草种子经不同处理方式处理后, 其发芽率未形成显著差异。

发芽势方面, 移 8 甘草种子和胀果甘草种子经不同方式处理后发芽率未有显著差异, 中兴甘草种子经浓硫酸处理和高档位脉冲处理后发芽势未有明显差异均高于低档位脉冲处理。

发霉率方面, 同一种子经不同方式处理后发芽率未有显著差异, 其中中兴甘草种子经低档位处理后发霉率最高, 胀果种子经浓硫酸处理后发霉率最低。

综合分析, 高档位脉冲处理甘草种子与浓硫酸处理相比未有显著差异。

2.2 表面活性剂对甘草种子发芽的影响

根据本课题组前期对不同浓度的各个表面活性剂处理甘草种子发芽实验的结果可得, 分别使用 SDS 十二烷基硫酸钠、3-磺丙基十二烷基甜菜碱、苯扎氯铵、吐温-80 处理甘草种子后分别在其浓度为

6.9 mmol·L⁻¹、0.089 mmol·L⁻¹、50 g·L⁻¹、100 g·L⁻¹ 时提高发芽率效果最好。故选上述实验结果作为表面活性剂正式实验的浓度标准。

表面活性剂处理甘草种子实验结果如图 2 所示。其中去离子水表示用去离子水处理的甘草种子; 浓硫酸表示用浓硫酸(浓度为分析纯)处理的甘草种子; SDS 表示用 SDS 十二烷基硫酸钠(浓度 6.9 mmol·L⁻¹)处理的甘草种子; 甜菜碱表示用 3-磺丙基十二烷基甜菜碱(浓度 0.089 mmol·L⁻¹)处理的甘草种子; 吐温-80 表示用吐温-80(浓度 100 g·L⁻¹)处理的甘草种子; 苯扎氯铵表示用苯扎氯铵(浓度 50 g·L⁻¹)处理的甘草种子。而各种表面活性剂+酸即为该表面活性剂最适浓度与浓硫酸混合处理的甘草种子; 各种表面活性剂+碱组同理。

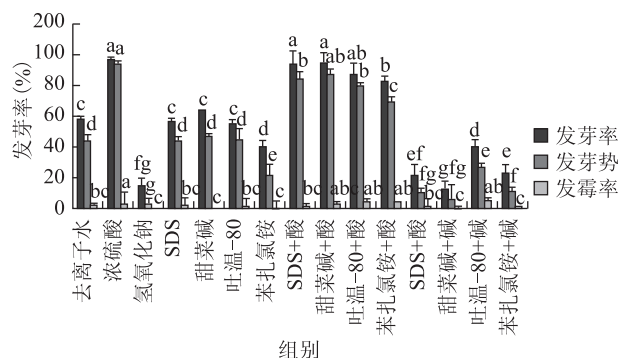


图 2 表面活性剂处理甘草种子实验结果对照图

分析图中数据可知: 发芽率方面, 表面活性剂处理的种子发芽率显著低于浓硫酸处理组; 各表面活性剂和浓硫酸混合组与浓硫酸组相比, 结果显示, 苯扎氯铵加浓硫酸组发芽率显著低于浓硫酸处理组, 其余各表面活性剂加浓硫酸混合处理组发芽率与浓硫酸处理组无显著差异; 各表面活性剂组与去离子水组相比, 结果表明, 苯扎氯铵组发芽率显著低于去离子水处理组, 其余各表面活性剂处理组发芽率与去离子水处理组无显著差异; 各表面活性剂和氢氧化钠混合组与氢氧化钠组相比, 吐温-80 加氢氧化钠组 > 苯扎氯铵加氢氧化钠组 > 其他组。

发芽势方面, 浓硫酸组与 3-磺丙基十二烷基甜菜碱加浓硫酸组发芽势最好, 其余表面活性剂加浓硫酸组则稍差; 除苯扎氯铵组外, 各表面活性剂组与去离子水组发芽势无显著差异; 各表面活性剂和氢氧化钠混合组与氢氧化钠组相比, 吐温-80 加氢氧化钠组 > 苯扎氯铵加氢氧化钠组 > 其他组。

发霉率方面, 浓硫酸组发霉率明显高于表面活

性剂组。其中氢氧化钠组、3-磺丙基十二烷基甜菜碱组、苯扎氯铵组、3-磺丙基十二烷基甜菜碱加氢氧化钠组和苯扎氯铵加氢氧化钠组发霉率最低。

综合分析,浓硫酸处理效果最佳。

3 结论与讨论

种子的发芽率、发芽势、发霉率是种子发芽的重要性能指标。发芽率高,发芽势强,则种子的发芽速度快。发霉率低则种子发芽效率高。由于甘草种子的硬实性,种子发芽受到种皮影响较大。因此,采用物理和化学方法处理种子,消磨种皮,便可提高种子的发芽率。

本研究表明,利用 RS-1 数字编码脉冲处理仪的高、低档位脉冲处理甘草种子,可显著提高种子发芽率。特别是高脉冲处理的不同甘草种子发芽率和发芽势与浓硫酸处理组无显著性差异。这表明,处理甘草种子时,可以考虑通过使用高档位脉冲辐射处理作为替代浓硫酸处理的一种方式。这样不仅能减少浓硫酸导致的环境污染,还能降低处理成本,使甘草发芽特性有所提升。鉴于用高档位脉冲辐射处理种子在提高甘草种子发芽率方面取得了不错的效果,可进一步研究找出最佳辐射时长等因素来提高种子发芽的效果。

用 SDS 十二烷基硫酸钠,3-磺丙基十二烷基甜菜碱,苯扎氯铵,吐温-80 表面活性剂处理种子发芽率普遍高于自然发芽率,但四种表面活性剂处理的种子发芽率普遍低于浓硫酸处理的种子。这说明使用 SDS 十二烷基硫酸钠,3-磺丙基十二烷基甜菜碱,苯扎氯铵,吐温-80 四种表面活性剂处理种子来提高发芽率的效果较浓硫酸差。表面活性剂加酸或加碱

混合处理也未取得更优效果。但表面活性剂处理后的种子发霉率较低,且处理后对种子破坏程度小,可通过进一步研究应用于提高其他种子发芽率。

参考文献

- [1] 陈小娜,邱黛玉,李燕君,等. 温度和水分对甘草种子萌发的影响[J]. 中国农学通报,2015,31(34):158.
- [2] 于娟,青梅,俞腾飞,等. 甘草种子播种前处理的最佳方法[J]. 内蒙古医科大学学报,2014;36(3):239.
- [3] 徐兆春. 甘草栽培与贮藏加工新技术[M]. 北京:中国农业出版社,2005:9.
- [4] 罗广军,金春德,吴玉德,等. 甘草种子处理方法的研究进展[J]. 延边大学农学报,2000,22(3):233-236.
- [5] 贾彩凤,李艾莲. 我国药用植物辐射诱变育种的研究进展[J]. 中草药,2007;38(4):633-附 1.
- [6] Guimaraes I C D, Pereira J, Cornelio, et al. The effect of CO60 on the physical and physicochemical properties of rice[J]. Cienciae Agrotecnologia,2012,36(2):210-216.
- [7] Flores P S, daSilva D F, Bruckner P, et al. Physico-chemical characterization of fruits of passion fruit obtained from gammairradiation[J]. Chciencia Rural, 2011, 41(11):1903-1906.
- [8] De Camargo A C, Canniatti-Brazaca S G, Mansi D N, et al. Gamma radiation effects at color, antioxidant capacity and fatty acid profile in peanut (*Arachishypogaea* L.) [J]. Ciencia E Tecnologia De Alimentos, 2011, 31(1):11-15.
- [9] 肉孜完古力·阿布都合巴尔. 甘草种子处理对种子发芽的影响[J]. 新疆农业科技, 2009, 04:12-13.
- [10] 杨江山, 张恩和, 黄高宝, 等. H2O2, NaCl, SA 处理对磨砂后甘草种子发芽特性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2009, 5(3):89.
- [11] 张余鹏. 不同处理方式对甘草种子发芽的影响[J]. 农村科技, 2013;32(9):62.

(收稿日期 2016-08-10)

(上接第 102 页)

- [19] Tang X C. Huperzine A (Shuangyiping): a promising drug for Alzheimer's disease [J]. Acta Pharmacologica Sinica 1996, 17(6):481-484.
- [20] Chui H F, Zhang, M. Dementia research in China. International Journal of Geriatric Psychiatry, 2000, 15(10): 947-953.
- [21] Saunders D A, Hobbs R J, Margules C R. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review [J]. Conservation biology, 1991, 5(1):18-32.
- [22] 王德立, 齐耀东, 冯锦东. 海南蛇石杉天然居群结构与生境因子研究[J]. 南方农业学报, 2011, 42(10): 182-191.

- [23] Leakey R R B. Adaptive biology of vegetatively regenerating weeds[J]. Advances in applied biology, 1981(6):57-90.
- [24] Kroom H, Groenendaal J M. The ecology and evolution of clonal plants [M]. Backhuys publishers, Leiden. 1997: 1-30.
- [25] 中国植物志编委会. 中国植物志: 第 6 卷[M]. 北京: 科学出版社, 2004:1-31.
- [26] Ma X Q, Tan C H, Zhu D Y, et al. Is there a better source of Huperzine A than *Huperzia serrata*? Huperzine A Content of Huperziaceae Species in China [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2005, 53(5):1393-1398.

(收稿日期 2016-04-29)