

蔓荆子种子生活力的测定及其与发芽率的相关性研究

孙荣进¹, 杜婷¹, 杨光义², 李鹏¹, 朱继孝¹, 曾金祥¹, 王晓云¹, 吴波¹, 朱玉野¹, 罗光明^{1*}

(1. 江西中医学院, 南昌 330004; 2. 鄱阳医学院附属太和医院, 湖北 十堰 442000)

[摘要] 目的: 筛选测定蔓荆子种子生活力的最佳方法, 明确生活力与发芽率之间的相关性。方法: 以 5 个不同产地的蔓荆子作为实验材料, 分别用四氮唑染色法、红墨水染色法、BTB 指示剂法测定种子的生活力。测定不同培养床(滤纸、海绵、沙子、蛭石)和不同温度(15, 20, 25, 30, 30/20, 25/15 ℃)对发芽率的影响, 优化种子发芽条件。结果: 四氮唑染色法测定种子的生活力是 3 种测定方法中最准确的, 在蛭石培养床、30 ℃恒温培养条件下, 蔓荆子的发芽率最高。四氮唑染色法测定的蔓荆子生活力与发芽力比值为 0.992, 存在显著的正相关性, 进一步求得蔓荆子四氮唑测定生活力 X 与发芽率 Y 的回归方程为 $Y = 0.967X + 6.038$ 。结论: 四氮唑染色法是蔓荆子种子生活力测定的最佳方法, 生活力与发芽率呈显著的正相关。

[关键词] 单叶蔓荆; 生活力; 发芽率; 相关性

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0130-05

Measurement of Seed Viability and Correlation with Germination Rate for *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.

SUN Rong-jin¹, DU Ting¹, YANG Guang-yi², LI Peng¹, ZHU Ji-xiao¹,
ZEN Jin-xiang¹, WANG Xiao-yun¹, WU Bo¹, ZHU Yu-ye¹, LUO Guang-ming^{1*}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicines, Nanchang 330004, China;

2. Taihe Affiliated Hospital of Yunyang College, Shiyan 442000, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the optimized seed viability test methods for *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham, and then measure the correlation between the germination rate and seed viability. **Method:** TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) staining, red ink staining and BTB staining were used respectively to evaluate seed viability of *V. trifolia* L. var. *simplicifolia* from five habitats. Conditions for seed germination contained

[收稿日期] 20110220(002)

[基金项目] 国家重大科技专项(2009ZX09308-002)

[通讯作者] * 罗光明, 博士, 教授、硕士研究生导师, 国务院特殊津贴享受者、江西省高校学科带头人, 研究方向: 中药资源开发与利用及中药材 GAP 生产技术, Tel: 0791-7118982, E-mail: jzlgm88@163.com

[4] 胡尚连, 贾攀庆, 曹颖等. GA3 和 IAA 对慈竹黄酮含量动态积累的调控效应[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(8): 3114.

[5] Carolyn E L, Jane E L, John R L. Developmental changes in enzymes of flavonoid biosynthesis in the skins of red and green apple cultivators[J]. Sei Food Agric, 1996, 71: 313.

[6] 李晓明, 罗毓健, 袁媛等. 高效液相色谱法测定黄芩愈伤组织中黄芩苷、黄芩素含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 1.

[7] 杨世海, 刘晓峰, 果德安等. 决明毛状根诱导及激素与诱导子对毛状根生长和蒽醌类化合物合成的影响[J]. 中草药, 2005, 36(5): 752.

[8] 黄诚梅, 江文, 吴建明等. 萘乙酸与多效唑对茉莉成花及新梢内源激素含量的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(4): 742.

[9] 何含杰. 细胞分裂素 6-BA 影响三裂叶野葛毛状根生长及其异黄酮产生的机理研究[D]. 硕士论文, 2006.

[责任编辑 蔡仲德]

four kinds of culture beds (filter paper, sponge, sand and vermiculite) and six temperature (15, 20, 25, 30, 30 °C then shift to 20 °C, 25 °C then shift to 15 °C). **Result:** Compared with the other two methods, TTC staining was the best one for the seed viability test. The seeds can reach to the highest germination rate on vermiculite culture bed in 30 °C. There was a significant relationship between germination rate and seed viability tested by TTC staining, and the correlation coefficient can reached to 0.992. The regression equation was proved to be $Y = 0.967X + 6.038$ (X : seeds viability; Y : germination rate). **Conclusion:** TTC staining was the optimal method to determine seed viability of *V. trifolia* L. var. *simplicifolia*. seed viability tested by this method was significant related with germination rate.

[**Key words**] *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham; viability; germination rate; correlation

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],主产于江西、山东、浙江、福建、广东、广西及云南等地,为辛凉解表常用药,具有疏散风热、清利头目、止痛的功效。目前,蔓荆子品种考证、资源状况、生物学特性、栽培、化学成分、炮制、药理作用及临床应用等已有研究^[2-3],但蔓荆子种子特性方面的研究尚属空白。因蔓荆子种子有休眠特性,目前生产上主要以营养繁殖为主^[4-6]。作者拟通过建立蔓荆子种子生活力测定方法,进而以其生活力与发芽率的相关性研究,找出两者的内在关联,以此来评价蔓荆子种子质量,指导蔓荆子生产。

1 材料

单叶蔓荆的种子分别采集于江西新建县、山东威海市、福建莆田市、广西防城市、浙江宁波市,经江西中医学院赖学文教授鉴定为单叶蔓荆 *V. trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.。

2 方法

2.1 发芽试验 将解除休眠后的蔓荆子种子,置于光照培养箱中。发芽温度分别有 15, 20, 25, 30 °C 恒温和 25/15, 30/20 °C 变温 6 种处理组,发芽床分别采用滤纸、海绵、沙子、蛭石等 4 种。每种处理 3 次重复,每次重复 25 粒种子。用 SPSS 11.0 分析培养床和温度对蔓荆子发芽率的影响。

2.2 生活力测定 分别用四氮唑染色法(TTC 法)、红墨水染色法、溴麝香草酚蓝法(BTB 法)测定。

2.2.1 TTC 法 将 5 批不同产地的种子编号后,在室温下浸泡 4 h 软化果皮,在蔓荆子果实顶端约纵轴长度 1/5 处横切,使露出果实的四室,然后与纵轴成 30°角斜切种子,暴露出种胚,放入盛有四氮唑溶液的离心管中。在 20, 30 °C 恒温箱中染色,四氮唑的浓度分别为 0.1%, 1% 2 个水平(用磷酸缓冲液配制 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑溶液, pH 6.5 ~ 7.5), 染

色时间分别为 4, 6, 8, 10 h。染色后根据胚着色程度和部位鉴定种子的生活力,计算有生活力种子的百分率。每个处理设 4 次重复,每次重复用 50 粒。

2.2.2 红墨水染色法 将 5 批不同产地蔓荆子种子编号,每批随机分为 2 组,一组用沸水煮 10 min,作为空白对照(死种子),一组直接染色。红墨水浓度为 5%,染色时间分别为 30 min, 1, 2, 3 h。染色完毕后,用自来水冲洗 5 次,根据胚着色程度部位和空白对照来鉴定种子的生活力,计算有生活力种子的百分率。每个处理设 4 次重复,每次重复用 50 粒。

2.2.3 BTB 法 将 5 批不同产地蔓荆子种子编号,每批随机分为 2 组,一组用沸水煮 10 min 至灭活,作为空白对照,一组浸泡于蒸馏水中 12 h。然后分别把蔓荆子种子整齐的包埋于备好的 0.1% 的 BTB 琼脂凝胶中,在 30 °C 恒温条件下,2 h 后观察种子周围出现的黄色晕圈情况,出现晕圈表明有活力。每个浓度水平设 4 次重复,每次重复用 25 粒。

3 结果

3.1 发芽实验 表 1 结果表明:以蛭石培养床 30 °C 恒温光照培养最优。江西新建县、山东威海市、福建莆田市、广西防城市,浙江宁波市所产蔓荆子的发芽率分别为 78.7%, 80.3%, 81.3%, 26.7%, 45.3%。

采用 SPSS 11.0 单因素分析江西新建县样品,在温度相同时,不同培养床的发芽率无显著性差异。在蛭石培养床不同温度的 SNK 比较的同类子集结果如表 2 所示。

3.2 生活力的测定

3.2.1 TTC 法 表 3 结果表明,生活力测定最佳条件为 TTC 浓度为 1%,染色的最佳温度为 30 °C,时间为 8 h。分别测得各地所产蔓荆子的生活力见表 2,蔓荆子生活力的判断标准参考图 1。

表 1 不同发芽介质和温度对蔓荆子发芽率的影响

培养床	温度 /℃	%									
		江西新建县		山东威海市		福建莆田市		广西防城市		浙江宁波市	
		发芽势	发芽率	发芽势	发芽率	发芽势	发芽率	发芽势	发芽率	发芽势	发芽率
湿沙	15	0.0	4.0	0.0	6.0	0.0	64.0	0.0	2.0	0.0	16.0
	20	0.0	70.0	0.0	70.0	0.0	84.0	0.0	10.0	0.0	46.0
	25	49.3	66.7	49.3	78.0	82.7	82.7	12.0	12.0	36.0	46.7
	30	61.3	77.3	61.3	80.5	73.3	80.0	4.0	14.7	20.0	30.7
	25/15	0.0	54.7	0.0	22.7	0.0	80.0	0.0	8.0	0.0	41.3
	30/20	58.7	77.3	58.7	72.7	58.7	77.3	0.0	16.0	46.7	45.3
蛭石	15	0.0	8.0	0.0	4.0	0.0	54.0	0.0	0.0	0.0	22.0
	20	0.0	76.0	0.0	74.0	0.0	86.0	0.0	12.0	0.0	46.0
	25	42.7	68.0	43.7	81.3	69.3	84.0	8.0	10.7	37.3	45.3
	30	53.3	78.7	56.3	80.3	78.7	81.3	12.0	26.7	38.7	45.3
	25/15	0.0	46.7	0.0	8.0	0.0	86.7	0.0	6.7	0.0	40.0
	30/20	52.0	77.3	56.0	75.3	78.7	84.0	0.0	17.3	44.0	45.3
海绵	15	0.0	2.0	0.0	10.0	0.0	36.0	0.0	0.0	0.0	14.0
	20	0.0	68.0	0.0	60.0	0.0	84.0	0.0	6.0	0.0	32.0
	25	21.3	58.7	23.3	68.7	50.7	73.3	8.0	10.7	25.3	37.3
	30	26.7	62.7	28.7	74.7	53.3	70.7	9.3	18.7	21.3	28.0
	25/15	0.0	1.3	0.0	2.7	0.0	64.0	0.0	6.7	0.0	20.0
	30/20	25.3	46.7	25.3	60.7	30.7	44.0	0.0	18.7	18.7	38.7
滤纸	15	0.0	8.0	0.0	8.0	0.0	56.0	0.0	0.0	0.0	8.0
	20	0.0	70.0	0.0	72.0	0.0	86.0	0.0	16.0	0.0	36.0
	25	40.0	61.3	40.0	77.0	74.7	76.0	8.0	14.7	34.7	45.3
	30	49.3	64.0	49.3	80.0	64.0	73.3	6.7	8.0	41.3	44.0
	25/15	0.0	58.7	0.0	76.7	0.0	80.0	0.0	12.0	0.0	36.0
	30/20	45.3	68.0	47.3	76.0	64.0	72.0	0.0	18.7	38.7	40.0

表 2 不同温度的 SNK (Student-Newman-Keuls) 比较

温度/℃	样品个数/N	$\alpha = 0.05$ 的子集		
		1	2	3
15.00	3	2.000 0		
25/15	3	11.666 7		
25.00	3	17.000 0		
20.00	3	18.666 7		
30/20	3	18.666 7		
30.00	3	19.666 7		
显著性		1.000	1.000	0.181

3.2.2 红墨水法 表 4 结果表明,红墨水法最佳的染色条件为 30℃,染色 2 h。

3.2.3 BTB 法 结果见图 2。结果表明,虽然采用 BTB 法得到的黄色晕圈比较明显,但死种子和活种子间没有显著性差异。

3.2.4 2 种方法测得生活力和发芽率的对比研究 结果见表 5。结果表明:同一批种子所测得的发芽率均高于生活力的测定结果,2 种生活力测定方法中又以 TTC 法高于红墨水法。

3.3 生活力和发芽力的相关性 TTC 法测得的蔓荆子生活力和发芽力的相关系数用 SPSS 11.0 分析

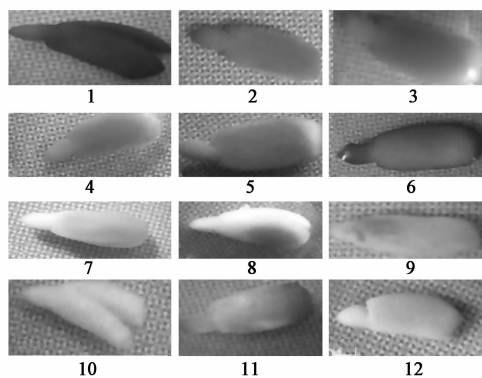


图 1 TTC 法蔓荆子种子的生活力的判断标准
1~6. 子叶与胚根都染色,为活性种子;7. 子叶染色,胚根未染色,为死种子;8. 子叶局部染色胚根未染色为死种子;9. 胚根和子叶只有小部分染色,为死种子;10. 完全不着色为死种子;11. 胚根未着色,子叶有小部分染色为死种子;12. 染色异常,胚根未染色为死种子

图 1 TTC 法蔓荆子种子的生活力的判断标准

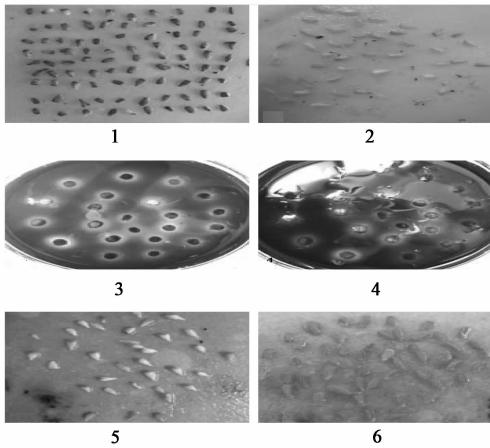
得 $r = 0.992 (P < 0.05)$, 两者存在显著线性关系。用相关与回归得到方程为 $Y = 0.967X + 6.038$ 。红墨水法测得的蔓荆子生活力和发芽力的相关系数用 SPSS 11.0 分析得 $r = 0.989 (P < 0.05)$, 两者存在显著线性关系。用相关与回归得方程 $Y = 0.967X + 8.153$ 。

表3 TTC法测定蔓荆子的生活力

TTC /%	染色 时间 /h	有生活力种子的比率/%				
		江西	山东	福建	广西	浙江
		新建县	威海市	莆田市	防城市	宁波市
0.1	4	0	0	0	0	0
	6	2.0	4.0	4.0	2.0	3.0
	8	12.0	17.0	20.0	7.0	14.0
	10	24.0	27.0	35.0	13.0	21.0
	1	44.0	38.0	57.0	12.0	8.0
1	6	66.0	62.0	82.0	18.0	30.0
	8	72.0	76.0	82.0	24.0	38.0
	10	72.0	76.0	82.0	24.0	38.0

表4 红墨水法测定蔓荆子的生活力

染色 温度 /°C	染色 时间 /h	有生活力种子的比率/%				
		江西	山东	福建	广西	浙江
		新建县	威海市	莆田市	防城市	宁波市
20	0.5	79.0	84.0	84.0	38.0	41.0
	1	79.0	84.0	80.0	32.0	41.0
	2	78.0	80.0	78.0	32.0	40.0
	3	77.0	80.0	78.0	30.0	40.0
30	0.5	79.0	84.0	84.0	38.0	41.0
	1	74.0	83.0	80.0	30.0	40.0
	2	71.0	72.0	74.0	22.0	36.0
	3	70.0	72.0	71.0	22.0	36.0



1. TTC法测定的活种子;2. TTC法测定的死种子(空白对照);3. BTB法测定的活种子;4. BTB法测定的死种子(空白对照);5. 红墨水法测定的活种子;6. 红墨水法测定的死种子(空白对照)

图2 不同方法测定蔓荆子种子的生活力

4 讨论

TTC法,红墨水法测定蔓荆子生活力和发芽力的 r 为 0.992 ($P < 0.05$), 0.989 ($P < 0.05$)。两者测定的生活力均与发芽率呈显著性关系。红墨水法的判断与操作过程中跟切口密切相关,切口处的种子细胞被染成红色造成判断错误,如图2,而TTC法可

表5 TTC法和红墨水法测定生活力的对比研究 %

产地	生活力		发芽率
	TTC法	红墨水法	
江西新建市	72.0	70.0	78.7
山东威海市	76.0	72.0	80.5
福建莆田市	82.0	81.0	81.3
广西防城市	24.0	22.0	26.7
浙江宁波市	38.0	36.0	45.3

以避免这一点,故采用TTC法。BTB法测定蔓荆子生活力的原理种子组织活细胞进行呼吸作用,吸收 O_2 , 放出 CO_2 , 当 CO_2 溶于水中生成 H_2CO_3 , 可解离成 H^+ 和 HCO_3^- , 使种子胚周围环境的酸度增加。利用溴麝香草酚蓝试剂测定酸度的变化,从而可测定种子的生活力。因为蔓荆子为核果,分为外、中、内三层果皮,对种子呼吸作用影响比较大,导致BTB的灵敏度降低而难于判断。戴铮、沈宇峰等^[7-8]研究玉米和白术种子的生活力和发芽率的相关性时,发现两者存在显著相关,借助回归方程利用生活力快速推断种子的发芽率,可解决生产实践中快速评价种子质量的问题,与本试验的结论一致。

蔓荆子的发芽试验中,不同温度的SNK比较结果表明,20,25,30,30/20 °C 四者之间无显著性差异,但与15,25/15 °C 之间均存在显著性差异,说明20 °C 以下的温度不适合蔓荆子的萌发。发芽势以30 °C 最高,因此采用30 °C 恒温光照培养。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005:252.
 [2] 牟宗慧,彭艳丽,刘红燕,等. 近10年蔓荆子的研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(10):57.
 [3] 靳光乾,张卉,刘善新,等. 不同产地蔓荆子种子质量研究[J]. 种子,2007,26(4):66.
 [4] 靳光乾,刘善新,王晓明,等. 蔓荆子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,2000,7(6):83.
 [5] 蒋允贤,何光荣. 汶上蔓荆子栽培与管理[J]. 山东医药,1989,8(3):32.
 [6] 陈奇,连晓媛,毕明,等. 蔓荆子开发研究[J]. 江西中医药,1991,22(1):42.
 [7] 戴铮. 玉米种子发芽率与生活力的相关性研究[J]. 种子,2004,23(9):68.
 [8] 沈宇峰,王志安,俞旭平,等. 白术种子生活力测定方法及其与发芽率的相关性研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(3):248.

[责任编辑 邹晓翠]

· 药理 ·

肠激安提取物对小肠吸收功能及推进运动的影响

唐洪梅¹, 何嘉仑^{2*}, 廖小红², 李得堂¹, 闫雪¹

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] **目的:**研究肠激安提取物对大鼠 *D*-木糖吸收和小鼠肠推进运动的影响。**方法:**SD 大鼠 70 只, 随机分为正常对照组、模型对照组、复方谷氨酰胺肠溶胶囊组、盐酸小檗碱片组、肠激安提取物高、中、低(按生药量计为 2.812, 1.406, 0.703 g·kg⁻¹) 剂量组, ig 给药 7 d; NIH 小鼠 154 只, 分组情况同大鼠, 肠激安提取物高、中、低(4.062, 2.031, 1.016 g·kg⁻¹) 剂量组, ig 给药 7 d。通过测定血清 *D*-木糖含量研究肠激安提取物对番泻叶 1 g·kg⁻¹ 致泻大鼠 *D*-木糖吸收的影响, 以及通过测定炭末推进率研究肠激安提取物对新斯的明致小鼠肠推进亢进的影响和该药对阿托品致小鼠肠推进抑制的影响。**结果:**肠激安提取物高、中、低剂量组的血清 *D*-木糖含量明显高于 ig 番泻叶模型组 ($P < 0.05$); 炭末推进率均明显低于新斯的明致小鼠肠推进亢进组和阿托品致小鼠肠推进抑制组 ($P < 0.01$)。**结论:**肠激安提取物具有增强小肠吸收功能和抑制肠推进运动的作用。

[关键词] 肠激安提取物; 血清 *D*-木糖含量; 炭末推进率

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0134-04

Effects of Changji' an Extract on *D*-xylose Absorption of Small Intestine in Rats and Intestine Propelling Movement in Mice

TANG Hong-mei¹, HE Jia-lun^{2*}, LIAO Xiao-hong², LI De-tang¹, YAN Xue¹

(1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Chang ji' an extract on *D*-xylose absorption in rats and intestine propelling movement in mice. **Method:** Seventy SD rats were randomized into 7 groups: control group, model group (induced by Folium Sennae, 1 g·kg⁻¹), complex glutamine group, berberine hydrochloride tablets group and Chang ji' an extract groups (2.812, 1.406, 0.703 g·kg⁻¹). The treatments (ig) were lasted for 7 days. One hundred and fifty four NIH mice were randomized in the groups as the above mentioned. The model of intestine propelling movement was induced by atropine. The doses of Chang ji' an extract were 4.062, 2.031, 1.016 g·kg⁻¹ accordingly. The treatments (ig) were also lasted for 7 days. *D*-xylose content in serum was determined to study the effect of Chang ji' an extract on *D*-xylose absorption in rats administered senna leaf, and charcoal-powder propelling rate was determined to study the effect of Chang ji' an extract on intestine propelling movement stimulated by neostigmine and that inhibited by atropine. **Result:** The *D*-xylose content of serum in high, medium and low dose groups was significantly higher than that content in model group ($P < 0.05$); the charcoal powder propelling rate in high, medium and low dose groups was significantly lower than that rate in the two kinds of model groups ($P <$

[收稿日期] 20101228(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073160); 广东省自然科学基金项目(10151040701000041); 广州市科技局重大科技生物专项(2008AJ-E4101-6); 广东省科技厅科技项目(2010B030700065)

[第一作者] 唐洪梅, 教授, 博士, 博士生导师, 主任药师, 主要从事中药药理及新药开发研究, Tel: 020-36588708, E-mail: tanghongmei2000@163.com

[通讯作者] * 何嘉仑, E-mail: kekevinvin@sohu.com