



陈思宇,芮蕊,王澍.乙酸和丙酸对玛咖种子萌发的影响[J].黑龙江农业科学,2021(10):112-116.

乙酸和丙酸对玛咖种子萌发的影响

陈思宇¹,芮蕊²,王澍¹

(1.西南林业大学 园林园艺学院,云南 昆明 650224;2.西南林业大学 土木工程学院,云南 昆明 650224)

摘要:为研究不同酚酸物质对玛咖发芽的影响,本试验以黑色和黄色玛咖为试材,用不同浓度的乙酸(5,10和15 mmol·L⁻¹)和丙酸(0.5,1.0,2.0和4.0 mmol·L⁻¹)溶液对玛咖种子进行处理,分别测量玛咖种子的发芽率、发芽势、发芽指数和胚芽生长情况。结果表明:与CK相比,经乙酸处理的黑色和黄色玛咖种子,随乙酸浓度的增加抑制种子萌发的作用逐渐增强、芽长变短。同时,低浓度的丙酸(0.5~1.0 mmol·L⁻¹),对玛咖的发芽率有一定的促进作用,随着丙酸浓度的逐渐增大,玛咖种子的发芽率逐渐下降,芽长生长受到抑制。另外,黑色与黄色玛咖相比,黄色玛咖芽长的生长对乙酸的适应性更强,而黑色玛咖芽长的生长对丙酸的适应性更强。

关键词:黑色玛咖;黄色玛咖;乙酸;丙酸;种子萌发

玛咖(*Lepidium meyenii* Walp)属十字花科独行菜属,一年生或二年生草本植物^[1]。前人研究发现,玛咖营养成分丰富且药用价值强,含有对

人体健康有利的不饱和脂肪酸^[2]。不同种类的玛咖均含有玛咖烯和玛咖酰胺,具有抗疲劳、调节内分泌^[3]等作用,并对呼吸疾病、抑郁症等有很好的治疗效果^[4-6]。

酚酸类物质是目前公认的化感物质^[7-8](如香草酸、阿魏酸、丁香酸、香豆酸等)对植物生长有不同的影响。不同浓度的酚酸类物质对种子萌发的影响存在差异。杨延杰等^[9]研究发现,邻苯二甲酸会促进萝卜种子萌发,且随着浓度的增大,促进

收稿日期:2021-06-20

基金项目:云南省农业基础研究联合专项农业联合青年项目(018FG001-073)。

第一作者:陈思宇(1994—),女,在读硕士,从事花卉理化特性的研究。E-mail:275543373@qq.com。

通信作者:王澍(1980—),男,博士,教授,从事土壤微生物研究。E-mail:61363661@qq.com。

Optimizing the Extraction Process of *Bletilla striata* Based on Fingerprint and Multivariate Statistical Methods

HAN Xue¹, ZENG Qing-hong², KONG Jiao¹, YANG Li-li¹, SONG Zhi-qin¹, WU Ming-kai¹

(1. Institute of Modern Chinese Medical Materials, Guizhou Academy of Agricultural Sciences/Guizhou Institute of Crop Variety Resources/Guizhou Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Guiyang 550006, China; 2. Guizhou Agricultural Science and Technology Development Center, Guiyang 550006, China)

Abstract: In order to determine the best extraction process of *Bletilla striata*, we used *Bletilla striata* as the experimental materials, to establish *Bletilla striata* HPLC fingerprint and optimize the extraction process. The fingerprinting technique was used to screen the optimal extraction process method of *Bletilla striata*, combined with single factor analysis and other statistical methods to investigate the extracted methanol concentration, temperature, extraction time and the size of the medicinal materials. The results showed that the fingerprint of *Bletilla striata* was established, and 16 characteristic peaks were selected. The optimal extraction process of *Bletilla striata* was determined to be *Bletilla striata* powder with No. 6 sieve and heated with 80% methanol in 55 °C water bath for 2.5 hours. Through the results of single factor analysis and curve fitting, it could be inferred that methanol concentration, temperature, extraction time and medicinal material particle size all had an impact on the extraction results. The process was stable and reliable, simple and easy to perform, and could evaluate the chemical composition and quality of *Bletilla striata* to a certain extent.

Keywords: fingerprint; process optimization; single factor analysis; curve fitting; HPLC

作用减弱。阿魏酸能够抑制马缨杜鹃和露珠杜鹃种子的萌发,同时随阿魏酸溶液浓度的增加抑制作用增强^[10]。此外,香草酸抑制了花生种子的萌发^[11]。乙酸对小麦种子萌发有明显的抑制作用,且随着浓度的增加抑制作用逐渐增强^[12]。此外,乙酸对鸭跖草种子萌发也有明显的抑制作用^[13]。课题组前期发现乙酸和丙酸是玛咖根系分泌物中含量较高的酸类物质。为探究自毒物质对玛咖化感效应,本试验以不同颜色的玛咖种子为材料,分析不同浓度的乙酸和丙酸对玛咖种子发芽的影响,为揭示玛咖自毒物质对玛咖潜在的影响,进一步解决玛咖连作障碍以及玛咖的可持续健康发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验于2020年在西南林业大学园林园艺学院实验室进行,选取来源于云南丽江玛咖种植基地的饱满、品质好、无病虫害的黑色和黄色玛咖种子。试验前,采用1%高锰酸钾溶液浸泡种子3 h对种子进行消毒处理,随后立即用灭菌水冲洗3次,并用无菌滤纸把种子表面的水分吸干。样品存放于4℃冰箱,待进行发芽试验。丙酸(上海沪试分析仪器有限公司)和乙酸(天津市风船化学试剂科技有限公司)均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 分别配置3种不同浓度的乙酸溶液(5,10和15 mmol·L⁻¹)和4种不同浓度的丙酸溶液(0.5,1.0,2.0和4.0 mmol·L⁻¹),以蒸馏水(CK)作为对照。将消毒后的种子播种于直径为9 cm的培养皿中(先铺2层滤纸于培养皿底部),每个培养皿50粒种子,3次重复。然后,分别滴加不同浓度梯度的乙酸、丙酸处理液5 mL,对照滴加蒸馏水。此外,试验过程中及时补充相

应浓度的乙酸、丙酸和水,并保持滤纸湿润。最后,将播种的培养皿置于恒温箱中,25℃,湿度60%及光照80%的条件下进行培养。播种后每24 h记录一次萌发种子的个数,并在第2,4和7天测量种子的芽长,7 d后计算玛咖种子的发芽率、发芽势和发芽指数。

1.2.2 测定项目及方法 根据每天记录的种子发芽数及胚芽长,计算其发芽率、发芽势与发芽指数。

发芽率(%) = 第7天发芽种子数/种子总数×100

发芽势(%) = 前3天发芽种子数/种子总数×100

发芽指数(GI) = \sum 当天发芽数(G_t)/天数(D_t)

1.2.2 数据分析 采用Excel 2010进行数据的记录整理,使用SPSS 22.0进行显著性分析,利用Sigmapit 13.0作图。

2 结果与分析

2.1 不同浓度酚酸对玛咖种子萌发的影响

2.1.1 乙酸 由表1可知,乙酸显著抑制了2种玛咖种子的发芽率、发芽势和发芽指数,且随乙酸浓度升高,抑制效果越强。当乙酸溶液浓度为5 mmol·L⁻¹时,对黄、黑色玛咖种子均有较强的抑制作用,发芽率、发芽势和发芽指数分别较对照降低了30.00%和66.00%、48.94%和91.49%、42.61和72.63,差异极显著。当乙酸浓度为15 mmol·L⁻¹时,对黄、黑色玛咖的抑制作用最强,发芽率、发芽势和发芽指数分别较对照降低了96.00%和98.00%、95.74%和97.87%、98.84和79.94,差异极显著。尽管乙酸对玛咖种子发芽都有抑制作用,但是对黑色玛咖种子的抑制作用更加显著。

表1 不同浓度乙酸对黄色和黑色玛咖种子发芽的影响

玛咖类型	乙酸浓度/(mmol·L ⁻¹)	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数
黄色	0(CK)	100.00±0 aA	94.00±0.02 aA	101.53±1.30 aA
	5	70.00±0.31 bB	48.00±0.33 bB	58.92±35.87 bB
	10	52.00±0.40 cC	40.00±0.37 cC	44.51±45.22 cC
	15	4.00±0.02 dD	4.00±0.02 dD	2.69±0.89 dD
黑色	0(CK)	100.00±0 aA	94.00±0.01 aA	81.03±1.35 aA
	5	34.00±0.26 bB	8.00±0.01 bB	8.40±3.74 bB
	10	4.00±0.02 cC	2.00±0.01 cC	1.24±0.68 cC
	15	2.00±0 dC	2.00±0 cC	1.09±0.58 dD

注:不同大小写字母表示在P≤0.01水平和P≤0.05水平差异显著。下同。

2.1.2 丙酸 由表 2 可知,丙酸浓度范围为 0.5~1.0 mmol·L⁻¹时,促进了不同颜色玛咖种子的萌发,但随着处理浓度的增大,促进作用减弱。丙酸浓度为 0.5 mmol·L⁻¹时,黄色和黑色玛咖种子的发芽率、发芽势以及发芽指数均达到最高值,分别较对照升高了 2.95%和 4.38%、4.17%和

3.16%、1.56 和 10.75,说明低浓度的丙酸更能促进黑色玛咖种子的萌发。丙酸浓度为 4.0 mmol·L⁻¹时,黄色和黑色玛咖种子发芽率、发芽势以及发芽指数最低,分别较对照降低了 5.24%和 1.40%、6.25%和 1.05%、9.68 和 2.58。

表 2 不同浓度丙酸对黄色和黑色玛咖种子发芽的影响

玛咖类型	丙酸浓度/(mmol·L ⁻¹)	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数
黄色	0(CK)	87.14±0.13 cC	96.00±0.18 bB	98.23±10.11 aA
	0.5	89.71±0.13 aA	100.00±0.12 aA	99.79±6.21 aA
	1.0	88.00±0.22 bB	98.00±0.18 aA	98.68±23.29 aA
	2.0	87.00±0.34 dC	96.00±0.11 bB	98.12±4.11 aA
	4.0	82.57±0.31 eD	90.00±0.33 cC	88.55±.87.00 bAB
黑色	0(CK)	81.71±0.40 bB	95.00±0.37 bcB	78.71±45.22 bcB
	0.5	85.29±0.02 aA	98.00±0.02 aA	89.46±0.89 aA
	1.0	82.00±0 bB	96.00±0 bAB	79.62±0 bB
	2.0	81.43±0 bB	95.00±0.27 bcB	78.36±14.50 bcB
	4.0	80.57±0 bB	94.00±0 cB	76.13±14.50 cC

2.2 不同浓度酚酸对玛咖种子胚芽长的影响

2.2.1 乙酸 由图 1 可知,乙酸对 2 种玛咖种子胚芽长均有抑制作用,随着乙酸浓度的增加抑制效果显著增强。对照和低浓度乙酸(5 mmol·L⁻¹)处理,黄色和黑色玛咖种子的胚芽长均随着发芽天数的增加呈上升趋势。但高浓度的乙酸(10 和 15 mmol·L⁻¹)处理,玛咖种子的胚芽长整体上呈现随着发芽天数的增加而降低的趋势。两种颜色玛咖相比,相同乙酸浓度下黄色玛咖较黑色玛咖胚芽长长势好。

2.2.2 丙酸 由图 2 可知,对照和丙酸处理条件下,黄色和黑色玛咖种子胚芽长整体上随着发芽天数的增加而显著增加。萌发第 2 天,黑色玛咖在 0.5~4.0 mmol·L⁻¹丙酸处理下的胚芽长显著低于对照,而黄色玛咖各处理的胚芽长差异不显著。此外,萌发第 7 天黄色玛咖种子,除了低浓度(0.5 mmol·L⁻¹)的处理,胚芽长与对照差异不显著,其他浓度处理,胚芽长均显著小于对照($P<0.05$);而黑色玛咖高浓度(2.0 和 4.0 mmol·L⁻¹)处理胚芽长均小于对照。由此可见,黄色和黑色玛咖种子的胚芽长受到丙酸抑制的最低浓度不同。从整体来看,高浓度的丙酸抑制了黄色和黑色玛

咖的胚芽长,但黑色玛咖对高浓度的丙酸适应力更强。

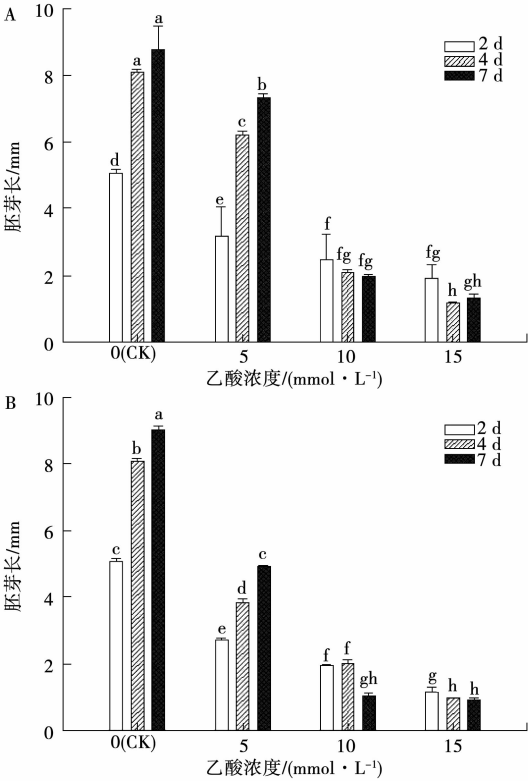
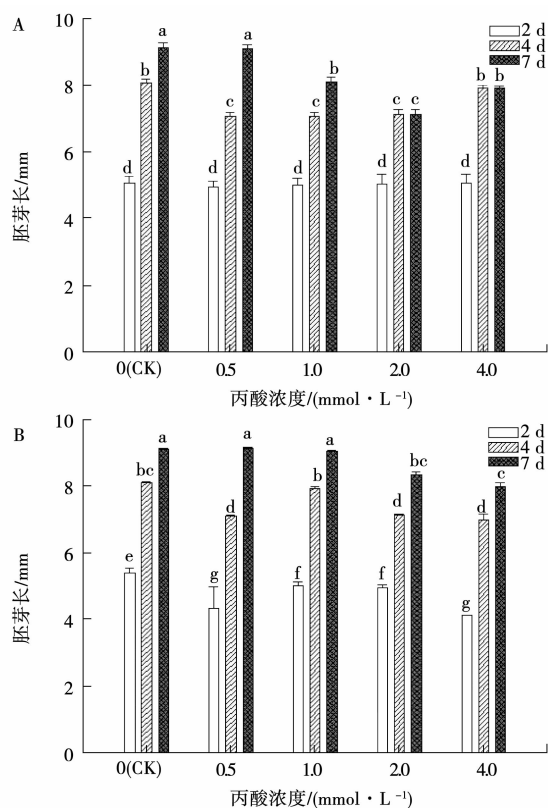


图 1 不同浓度乙酸对黄色(A)和黑色(B)玛咖胚芽长的影响

注:小写字母表示 $P\leq0.05$ 水平差异显著。下同。



2 不同浓度丙酸对黄色(A)和黑色(B)玛咖胚芽长的影响

3 讨论

植物根系会分泌出很多的化学物质(如糖类、蛋白质以及其他次生代谢物质),而酚酸类物质是导致连作障碍的重要原因之一^[14]。本文研究了玛咖根系分泌物中含量较高的乙酸和丙酸对种子发芽的影响,结果表明不同浓度的乙酸处理,对黑、黄两色的玛咖种子发芽均有明显的抑制作用,且随乙酸浓度的增加,抑制作用逐渐增强。这与乙酸对小麦^[12]、鸭跖草^[13]种子萌发的研究结果相同。乙酸和许多化感物质如阿魏酸、香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸一样,对种子萌发和植物的生长均有明显的抑制作用,且随着浓度的增加抑制作用增强^[15-17]。此外,低浓度的丙酸(0.5~1.0 mmol·L⁻¹)对玛咖种子的发芽率有一定的促进作用,而高浓度的丙酸(4.0 mmol·L⁻¹)对发芽率有较强的抑制作用,该结果与酚酸对杉木和大豆种子研究结果相似^[18-19]。而周宝利等^[20-22]对茄子、萝卜^[9]黄瓜和辣椒以及人参进行培养试验

时发现,种子胚芽生长有明显“低促高抑”作用。而本研究中仅有低浓度的丙酸促进了玛咖种子的萌发,但未发现低浓度的乙酸和丙酸对玛咖胚芽生长有促进作用。这种现象可能与种子萌发相关的关键酶对酚酸类物质敏感性存在差异,进一步对种子萌发和胚芽生长的作用不同。

玛咖种子由于种皮颜色的差异导致其萌发特性不一致。而高浓度乙酸和丙酸处理条件下,玛咖种子的抑制作用更加显著,其中黄色玛咖对乙酸的适应性更强。这与尚瑞广等^[23]针对棕黄色、棕红色和黑色玛咖种子萌发特性的研究结果相似,其结果发现玛咖种子活力因表现型不同存在差异,产生这种现象的原因可能是由于参与控制玛咖种皮颜色的基因调控不同。本试验结果仅证明了乙酸和丙酸对玛咖种子发芽存在影响,下一步将对这2种酚酸对玛咖苗期生长、土壤环境、土壤微生物等方面的影响进行研究,进一步分析植物—土壤—化感物质之间的关系,为解决玛咖连作障碍提供理论依据。

4 结论

乙酸和丙酸两种酚酸物质对玛咖种子萌发的影响存在差异。乙酸对黑、黄两色的玛咖种子发芽均有明显的抑制作用,且随乙酸浓度的增加,抑制作用逐渐增强。同时,低浓度的丙酸(0.5~1.0 mmol·L⁻¹)对玛咖的发芽率有一定的促进作用,而高浓度的丙酸(4.0 mmol·L⁻¹)对发芽率有较强的抑制作用。另外,从整体来看,乙酸和丙酸对玛咖胚芽长均有抑制作用。但黄色玛咖种子对乙酸适应性更强,而黑色玛咖种子对丙酸处理适应性更强。由此可见,不同酚酸类物质以及不同种皮颜色对玛咖种子萌发的影响均存在差异。

参考文献:

- [1] 尹子娟,杨成金,尹品耀,等.玛咖的营养成分及功效研究进展[J].云南农业科技,2012(5):61-64.
- [2] 梅松,余龙江.玛咖(*Lepidium meyenii*)有效成分分析及生物活性研究[D].武汉:华中科技大学,2003.
- [3] 王义强,陈章靖,王启业,等.玛咖药用价值与引种培育研究进展[J].经济林研究,2014,32(2):167-172

- [4] 张永忠. 玛咖醇提物对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 天产物研究与开发, 2007, (19): 274-276.
- [5] 金文闻. 玛咖和西洋参皂苷用对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(1): 45-48.
- [6] GONZALES G F, MIRANDA S, NIETO J, et al. Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats[J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2005, 3(1): 5-20.
- [7] WANG Y P, WANG H T. Allelochemicals from roots exudation and its environment behavior in soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2010, 41(2): 501-507.
- [8] CHON S U, CHOIB S K, JUNG S, et al. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard gras[J]. Crop Protection, 2002, 21(10): 1077-1082.
- [9] 杨延杰, 王晓伟, 赵康, 等. 邻苯二甲酸对萝卜种子萌发、幼苗叶片膜脂过氧化及渗透调节物质的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(19): 6074-6080.
- [10] 金晶, 付远洪, 李朝婵, 等. 阿魏酸对 2 种野生杜鹃种子萌发的化感作用[J]. 种子, 2017, 36(06): 22-25.
- [11] 黄玉茜, 杨劲峰, 梁春浩, 等. 香草酸对花生种子萌发、幼苗生长及根际微生物区系的影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(9): 124-134.
- [12] 张慧丽, 曲力涛, 李景文, 等. 乙酸对小麦种子发芽的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2000, 22(4): 15-17.
- [13] 张红梅, 张慧丽, 曲力涛. 乙酸对鸭跖草种子萌发的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2002(1): 22-24.
- [14] HEJL A, EINHELLIG F A, RASMUSSEN J A. Effects of juglone on growth, photosynthesis, and respiration[J]. Journal of Chemical Ecology, 1993, 19(3): 559-568.
- [15] 邵庆勤, 李孟良, 杨安中. 几种化感物质对大巢菜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国农学通报, 2006, 22(7): 294-297.
- [16] 王璞, 赵秀琴. 几种化感物质对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国农业大学学报, 2001, 6(3): 26-31.
- [17] 丁国昌, 曹光球, 林思祖, 等. 2 种杉木化感物质对杉木种子萌发的化感效应[J]. 福建农林大学学报, 2007, 36(2): 134-137.
- [18] 庄正, 李艳娟, 刘青青, 等. 外源低分子有机酸对杉木种子萌发及幼苗抗氧化特性的影响[J]. 江西农业大学学报, 2017, 39(2): 302-311.
- [19] 王树起, 韩丽梅, 杨振明. 不同有机酸对大豆生长的化感效应[J]. 大豆科学, 2002, 21(4): 267-273.
- [20] 周宝利, 孙传齐, 韩琳, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对茄子根际土壤黄萎菌数量及土壤微生物组成的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(6): 150-153.
- [21] 李轶修, 周宝利, 刘娜, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对 3 种蔬菜作物种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 西北农业学报, 2009, 18(2): 217-220, 224.
- [22] 黄小芳, 李勇, 丁万隆. 人参根分泌物对种子萌发的自毒效应[J]. 种子, 2009, 28(10): 4-7.
- [23] 尚瑞广, 王兵益. 玛咖不同颜色种子表型性状及活力特性分析[J]. 林业科学研究, 2015, 28(1): 122-126.

Effects of Acetic Acid and Propionic Acid on the Germination of Maca Seeds

CHEN Si-yu¹, RUI Rui², WANG Shu²

(1. School of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. School of Civil Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: In order to study the effects of different phenolic acids on the germination of maca. In this paper, black and yellow maca seeds were treated with different concentrations of acetic acid (5, 10 and 15 mmol·L⁻¹) and propionic acid (0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mmol·L⁻¹). The germination rate, germination potential, germination index and germ growth of maca seeds were measured. The results showed that, compared with CK, the germination inhibition of black and yellow maca seeds treated with acetic acid increased with the increase of acetic acid concentration, and the bud length became shorter. At the same time, low concentration of propionic acid (0.5-1.0 mmol·L⁻¹) could promot the germination rate of maca. With the increase of propionic acid concentration, the germination rate of maca seeds decreased and the growth of bud length was inhibited. In addition, black maca compared with yellow maca, the growth of yellow maca bud length was more adaptable to acetic acid, while the growth of black maca bud length has stronger adaptability to propionic acid.

Keywords: black maca; yellow maca; acetic acid; propionic acid; seed germination rate