

A Preliminary Study on the Causes of Seed Dormancy of Cinnamomum Migao

Kongyun Wu^{1*}, Yan Zhu¹, Jianwei Chen², Guangyi Liang²

¹Guiyang University, Guiyang Guizhou

²Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Email: wuky2575@sina.com

Received: Mar. 23rd, 2018; accepted: Apr. 4th, 2018; published: Apr. 11th, 2018

Abstract

Objective: To research the reason of seed dormancy in Cinnamomum Migao. **Method:** We use certain concentration of hydrogen peroxide treatment Migao fruit, it can make Migao seed germination rate increased from zero to more than forty percent. On the basis of this, the changes of chemical constituents in the fruit of Migao were compared before and after treatment with hydrogen peroxide. The chemical constituents in the fruit of Migao were determined to inhibit the seed germination. And verification experiments show that these components play an inhibitory effect on seed germination. **Result:** After hydrogen peroxide treatment Migao fruit, there are six kinds of chemical composition completely disappeared. **Conclusion:** First, inhibition of Migao seed germination chemical composition is not one, but many, they exist in the meter Migao volatile oil; Second, hydrogen peroxide can destroy partially inhibited seed germination chemical composition, thereby increasing the number of Migao seeds germinate. These easily destroyed chemical compositions of hydrogen peroxide are 2,3-Dehydro-1,8-Cineole, Cis-Sabinene hydrate, β -Cubebene, α -Humulene, α -Gurjunene, and Ledene. They may be all or part participated in the inhibition of seed germination.

Keywords

Migao Fruit, Chemical Composition, Germination, Inhibition

米槁种子休眠原因的初步研究

武孔云^{1*}, 朱 燕¹, 陈建伟², 梁光义²

¹贵阳学院, 贵州 贵阳

²贵阳中医学院, 贵州 贵阳

Email: wuky2575@sina.com

收稿日期: 2018年3月23日; 录用日期: 2018年4月4日; 发布日期: 2018年4月11日

*通讯作者。

摘要

目的：研究米槁种子休眠的原因。方法：在以往的研究中，我们用一定浓度的双氧水处理米槁果实，可使米槁种子的发芽率从零提高到百分之四十多。以此为依据，通过比较双氧水处理前后米槁果实化学成分的变化，确定了米槁果实中抑制种子萌发的化学成分。并通过验证实验证明，这些成分对种子萌发起到了抑制作用。结果：用双氧水处理米槁果实后，有6种化学成分完全消失。结论：第一，抑制米槁种子萌发的化学成分不是一种，而是多种，他们存在于米槁果实的挥发油中；第二，双氧水可以破坏部分抑制种子萌发的化学成分，从而提高米槁种子的发芽数，这些容易被双氧水破坏的化学成分是：**2,3-Dehydro-1,8-Cineole, Cis-Sabinene hydrate, β -Cubebene, α -Humulene, α -Gurjunene, Ledene**。他们可能全部或部分参与了抑制种子萌发的作用。

关键词

米槁果实，化学成分，萌发，抑制

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

米槁是樟科樟属植物 *Cinnamomum migao* H.W.Li 的干燥果实[1]。我省民间常用于治疗腹胀、腹痛、晕车呕吐及牛马腹胀等人畜疾病[2]。在上个世纪六十年代，贵阳中医学院邱德文教授发现贵州省罗甸县苗族民间用米槁果实治疗胸痛、胸闷及哮喘有较好效果，特别是对于确诊为冠心病心绞痛患者有明显的缓解作用[3]。从此以后，掀起了研究米槁果实的热潮，对其进行了系统的本草学、药理学及中药化学的研究，并进行了开发利用，取得了一批能治疗多种疾病药物，如：心胃止痛胶囊、米槁心乐滴丸、金喉健喷雾剂等等[4]-[9]。这一结果导致原材料供不应求。为此，我们在有关单位的资助下，对其资源进行了一系列相关研究，现就其种子休眠的原因作一简短报道。

2. 实验材料

2.1 米槁果实产地

贵州省荔波县水维乡，经何顺志教授鉴定为樟科植物 *Cinnamomum migao* H.W. Li 的果实。

2.1.1. 采种时间

2002年10~12月。

2.1.2. 采收方法

果实由绿变棕，再变黑时，即可采收。用摘取法做到谁熟随采。将采集到的果实阴干，用敲击法击破果实，去掉种子，各称取果肉250g两份，用透气布袋装好，储藏于1℃~5℃的冰箱中。

2.2. 试验用种

晋菜三号大白菜(恒泰牌、一代杂种)由山东省临朐县三阳种苗服务中心出品；改良罗汉莴笋(用王牌)

由重庆市永旺种子有限公司出品。

2.3. 试剂

双氧水；吐温-80；水；圆形滤纸等。

2.4. 仪器与设备

2.4.1. 设备

电炉；水蒸气蒸馏装置；培养皿等。

2.4.2. 仪器

HP6890/HP5973 GC/MS 联用仪(美国惠普公司)。

3. 方法

3.1. 挥发油的提取方法[9]

3.1.1. 米槁果肉的前处理

将两份实验材料分别粉碎成粉碎度为 30~50 的粗粉，备用。

3.1.2. 提取方法

根据种子萌发的预实验，将 I、II 号样粗粉分别装入 2 L 的可乐瓶中，在两个可乐瓶中分别加入 1000 ml 清水和 1000 ml 30% 的双氧水水溶液，浸泡 72.0 h 后，滤出粗粉，在各用清水浸泡 24 h，滤取粗粉，分别将 I、II 号样粗粉装入水蒸气蒸馏装置，加水蒸馏提取 6.0 h (加热，有溜出液后开始计时，蒸馏 6 h)；提取完成后分取上层挥发油得 I 号样 13 ml、II 号样挥发油 13 ml。分别取 I 号、II 号挥发油 0.5 ml 送样上机分析。其余挥发油用石蜡密封于小瓶内，用黑色不透光纸包裹后，置 1℃~5℃ 的冰箱中保存，待用。

3.2. 挥发油的 GC-MS 测定[10]

3.2.1. 实验条件

色谱柱为 HP-5MS5% Phenyl Methyl Siloxane (30 mm × 0.25 mm × 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱，以 5℃·min⁻¹ 升温至 280℃，保持 2 min，柱温 50℃ (保留 2 min)；柱前压 7.62 psi，载气流量 1.0 ml·min⁻¹；汽化室温度 250℃；载气为高纯 He (99.999%)；离子源为 EI 源；电子能量 70 eV；溶剂延迟 4.5 min；发射电流 34.6 μA；接口温度 280℃；离子源温度 230℃；倍增器电压 2185 V；质量范围 10~500 amu；四极杆温度 150℃；进样量 1 μl (正己烷溶液)；分流比 40:1。

3.2.2. 定性分析

使用 HPMSD 化学工作站、Nist98 标准质谱图库、WILEY275 质谱图库检索。峰面积归一化计算求得各化学成分在挥发油中的相对含量。

4. 验证实验

4.1. 培养液的制备

分别取 I、II 号样挥发油 2.5 ml 放入研钵中，分别加入 2.5 ml 吐温-80，用力充分研磨，并不断加入蒸馏水，最后定容 100 ml 待用；用同样方法不加挥发油，只加 2.5 ml 吐温-80，制得阴性对照；不加挥发油、吐温-80 只加水为空白对照。精密量取上述液体 10 ml，分别放入 100 ml 容量瓶中，并定容至 100 ml，制得四种不同的培养液。

4.2. 发芽床的制备[10]

按农作物种子检验规程(发芽实验)所规定的相关标准制备。本实验采用纸床法,用直径 10 cm 的滤纸两层,放入培养皿中制成。

4.3. 发芽实验[11]

取 50 粒试验种子均匀放入用培养液润湿的培育床上,置于 22℃ 的培养箱中,观擦种子,添加培养液。重复三次。

4.4. 数据处理

用 IBM SPSS Statistics 21 作为统计工具。

4.4.1. 均值及其标准误的计算

将发芽数选入因变量列表,不同处理选入自变量列表;将统计量:均值、标准误选入单元格统计量,进行均值统计分析。

4.4.2. 单因素方差分析

将发芽数选入因变量列表,不同处理选入因子列表;在显著性水平 0.05 及 0.01 的条件下,进行多项式对比,用最小显著差法(LSD 法)进行各组间两两比较,对统计量进行方差同质性检验。

5. 结果与分析

5.1. 结果

5.1.1. 出峰结果

挥发油 GC-MS 分析,所得总离子流图如图 1、图 2 所示。I 号样、II 号样分别检出 81 和 85 个峰。

5.1.2. 化合物的鉴定结果

I 号样鉴定出 66 个化合物;II 号样鉴定出 67 个化合物。I 号样、II 号样共有化学成分 60 种;I 号

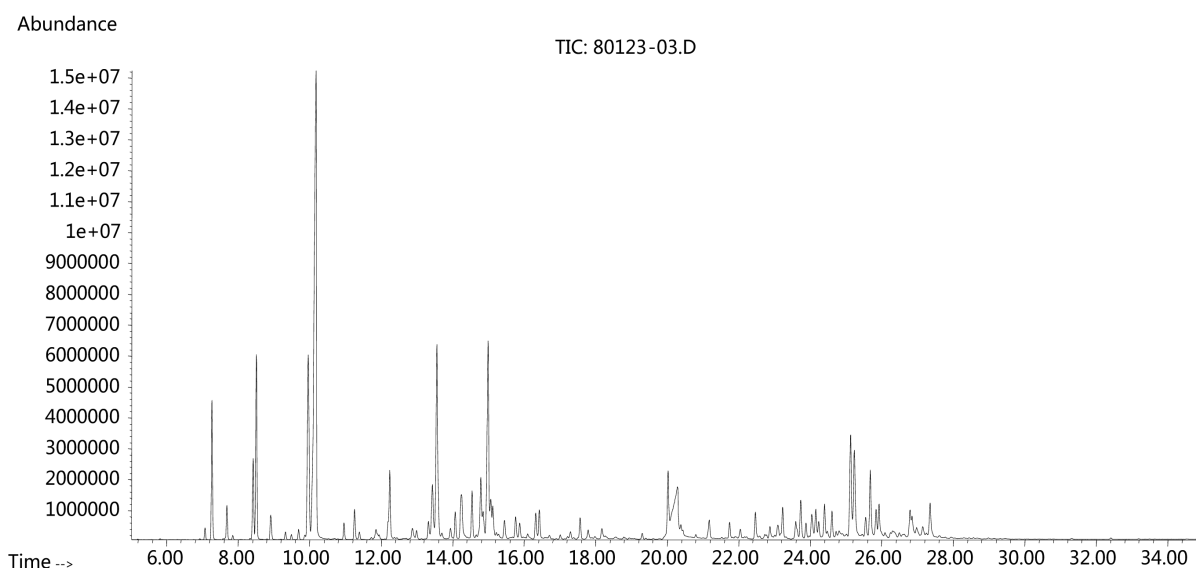


Figure 1. Sample number one

图 1. I 号样

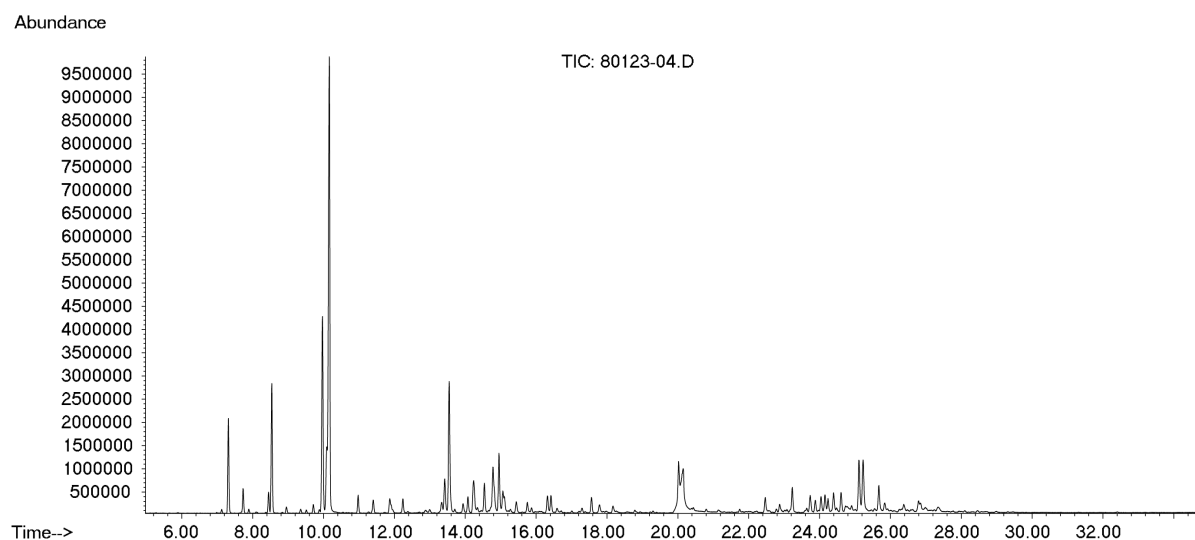


Figure 2. Sample two
图 2. II 号样

样特有 6 种, 它们分别为: 2,3-Dehydro-1,8-Cineale, Cis-Sabinene hydrate, β -Cubebene, α -Humulene, α -Gurjunene, Ledene; II 号样特有 7 种, 它们分别是: Benzaldehyde, β -Myrcene, M-Cymene, P-Cymenyl, 2-NonenOne, Nopinone, P-Mentha-1,4-dien-7-ol。更详细情况见表 1。

5.1.3. 种子发芽统计结果

均值及其标准误计算结果见表 2。方差齐性检验大白菜、莴苣、莴笋显著性分别为 0.483、0.803、0.280, 都大于 0.05, 说明各组的总体方差相等, 单因素方差分析结果可信。单因素方差分析结果见表 2。各处理间字母相同表示无显著性差异, 字母不同表示存在显著性差异。小写字母表示显著性水平为 0.05; 大写字母表示显著性水平为 0.01。

5.2. 分析

从表 2 可以看出, 空白对照与阴性对照(只含吐温-80)之间不论在 0.05 还是 0.01 显著水平上都不存在显著性差异, 说明吐温-80 对大白菜、莴苣、莴笋种子的发芽率不会产生影响。因此, 用吐温-80 来制备实验样品是科学合理的。空白对照与未氧化样品(I 号样)、已氧化样品(II 号样)之间不论在 0.05 还是 0.01 显著水平上都存在显著性差异, 说明不论是未氧化样品(I 号样)还是已氧化样品(II 号样)中均含有种子萌发抑制物, 从发芽率可以看出已氧化样品(II 号样)含有的种子萌发抑制物比未氧化样品(I 号样)要少。已氧化样品(II 号样)与未氧化样品(I 号样)之间不论在 0.05 还是在 0.01 水平上, 种子发芽率都存在显著性差异, 这种差异是两种处理中含有不同抑制物造成的。通过表 1 我们可以看出, 在已氧化样品(II 号样)中, 一部分化学成分消失, 而新产生另一部分化学成分, 这一变化过程使得米槁种子的萌发数从 3 左右提高到 25 左右, 说明未氧化样品(I 号样)中特有的 6 种(2,3-Dehydro-1,8-Cineale, Cis-Sabinene hydrate, β -Cubebene, α -Humulene, α -Gurjunene, Ledene)成分, 全部或部分具有抑制种子萌发的作用。

6. 小结

通过本研究, 我们可以得出以下结论: 第一, 抑制米槁种子萌发的化学成分不是一种, 而是多种, 他们存在于米槁果实的挥发油中; 第二, 双氧水可以破坏部分抑制种子萌发的化学成分, 从而提高米槁种子的发芽数, 这些容易被双氧水破坏的化学成分是: 2,3-Dehydro-1,8-Cineale, Cis-Sabinene hydrate,

Table 1. I, II, and the relative content of samples detected compounds**表 1.** I、II 号样检出的化合物及其相对含量

I 号样特有化合物	I、II 号样共有化合物	II 号样特有化合物	I (%)	II (%)
	<i>α</i> -Thujene		0.233	0.132
	Tricyclene		0.023	0.029
	<i>α</i> -Fenchene		0.033	0.032
	<i>α</i> -Pinene		2.890	3.423
	Verbenene		0.087	0.153
	Camphene		0.709	0.919
		Benzaldehyde		0.073
	<i>β</i> -Pinene		4.052	4.890
	Sabinene		1.833	0.765
	<i>α</i> -Phellandrene		0.178	0.182
2,3-Dehydro-1, 8-Cinedle			0.617	
		<i>β</i> -Myrcene		0.276
	<i>α</i> -Terpinene		0.224	0.338
		M-Cymene		0.137
	<i>α</i> -3-Carene		0.115	0.139
	Limonene		1.579	2.890
	P-Cymene		5.750	8.378
	1,8-Cineole		18.444	21.606
	Cis-Linalool oxide		0.177	0.604
	Trans-Sabinene hydrate		0.700	0.061
	Myrtenal		0.861	2.460
	<i>α</i> -Terpinolene		0.335	0.628
Cis-Sabinene hydrate			0.287	
		2-Nonenone		0.126
		P-Cymenyl		0.247
	Verbenol		0.388	0.182
	L Linalool		1.659	0.618
	Sabinaketone		0.301	0.167
	Campher		6.210	6.294
	Trans-Pinocrveol		1.804	1.703
		Nopinone		0.583
	<i>α</i> -Camphotenal		0.246	0.181
	<i>α</i> -Terpineol		1.111	0.740
	P-Cymen-8-ol		6.222	2.178
	Cryptone		0.827	1.365
	Terpinen-4-ol		1.791	2.081
	Pinocarvone		0.689	0.452
	Borneol		1.892	0.713
Ledene			0.703	
	X-Eudesmol		0.909	0.426

Continued

α -Gurjunene		0.915	
	Humulene oxide	0.850	0.151
	Guaiol	0.538	3.090
	Carfophyllene oxide	2.990	2.662
	Spathulenol	3.117	0.385
	Lauricacid	0.228	0.928
	Hedycryol	0.938	0.525
	α -Calacrene	0.465	0.904
	δ -Cadinene	1.047	0.204
	T-epi- α -Selinene	0.161	1.192
	Dihydrovo- β -Agarofuran	0.827	0.135
	Germacrene B	0.492	0.513
	β -Selinene	0.425	0.149
β -Cubebene		0.334	
	Epizonarene	0.397	0.133
	β -Caryophyllene	0.583	4.494
α -Humulene		0.248	
	Capricacid	4.812	3.364
	α -Copaene	2.011	0.111
	P-Mentha-1,4-dien-7-ol		0.396
	α -Cubebene	0.166	0.135
	Carvacrol	0.370	0.490
	Cuminol	0.306	0.691
	1-Bornyl-acetate	0.563	0.237
	Phellandral	0.219	0.783
	(+)-Carvep	0.135	0.808
	Cuminal	0.751	0.079
	Cis-Carvep	0.666	0.187
	Ex-2-Hydroxycineole	0.163	0.451
	Trans-Carveol	0.454	0.563
	Verbenone	0.594	0.586
	Myrtenol	0.566	0.922

Table 2. The statistical results of seed germination data ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

表 2. 种子发芽情况的数据统计结果($\bar{X} \pm s, n = 3$)

处理	大白菜	莴苣	莴笋
未氧化样品(I号样)	2.67 \pm 1.76c C	3.67 \pm 1.20c C	3.67 \pm 1.20c C
已氧化样品(II号样)	25.00 \pm 1.73b B	25.00 \pm 2.31b B	25.00 \pm 2.89b B
阴性对照(只含吐温-80)	45.00 \pm 1.56a A	43.67 \pm 1.86a A	45.67 \pm 0.67a A
空白对照	43.00 \pm 0.57a A	45.67 \pm 1.86a A	46.33 \pm 0.88a A

注: 小写字母表示 0.05 水平、大写之字母表示 0.001 水平; 相同字母无差异、不同字母有差异。

β -Cubebene, α -Humulene, α -Gurjunene, Ledene。他们可能全部或部分参与了抑制种子萌发的作用。那么, 哪些具体的成分参与了抑制作用呢? 要回答这一问题, 还需要进行更加深入的研究。

基金项目

贵州省科技厅自然科学基金资助项目(黔科合 J 字[2008] 2138); 贵阳学院重点资助项目[2008015(理科)]。

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]. 第三十一卷. 北京: 科学出版社, 1982: 172-178.
- [2] 刘宁, 赵山. 米槁的生药学研究[J]. 贵阳中医学院学报, 1992, 14(1): 61-64.
- [3] 邱德文, 刘宁. 米槁的本草学研究[J]. 中国医药学报, 1993, 8(2): 19-20.
- [4] 张娜, 武孔云. 米槁精油对半夏镰刀菌的抑制作用研究[J]. 亚太传统医学, 2015, 11(1): 15-16.
- [5] 付原, 严德凤, 李开斌, 等. 米槁心乐滴丸对动物药效学的研究[J]. 大连医科大学学报, 2005, 27(5): 351-352.
- [6] 王金华, 张娜, 武孔云, 等. 米槁种子脂肪及其脂肪酸含量分析[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(1): 72-74.
- [7] 陈达, 杨佃志. 大果木姜子不同组方提取物体外抗菌试验研究[J]. 中国民族民间医药, 2010, 18(2): 42-44.
- [8] 赵立春, 邱明华, 邱德文, 等. 苗药大果木姜子果实挥发油化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 2009, 24(5): 353.
- [9] 武孔云, 梁云霞, 张娜, 等. 水蒸气蒸馏提取米槁精油的工艺研究[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(4): 17-27.
- [10] 武孔云, 徐必学, 梁光义, 孙超. 不同贮藏时间对米槁药材有效成分影响的比较研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2323-2325.
- [11] 杨念福, 主编. 种子检验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2012: 132-133.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2169-2432, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: wjf@hanspub.org