

次氯酸钠处理对蔷薇红景天种子促萌发及生理生化影响

李欣益¹, 刘金欣², 武晓丽³, 臧二欢³, 曾令超¹, 石林春^{1,3*}

(1.承德医学院研究生院, 河北 承德 067000; 2.中央民族大学药学院, 北京 100081;

3.中国医学科学院/北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要: **目的** 明确栽培蔷薇红景天种子群体特征, 建立种子筛分标准, 探索高效促萌发方法。 **方法** 通过形态学观察、DNA条形码鉴定及筛分(30目、40目、50目)分析种子群体特征。设置蒸馏水对照及5%、7%、9%次氯酸钠(NaClO)处理组, 测定萌发率、发芽势及生理生化指标。采用蒽酮比色法测可溶性糖、淀粉含量; 考马斯亮蓝法测蛋白质含量; 水溶性四唑盐法测超氧化物歧化酶(SOD)活性; 愈创木酚法测过氧化物酶(POD)活性; 钼酸铵法测过氧化氢酶(CAT)活性; 硫代巴比妥酸法测丙二醛(MDA)含量; 酶联免疫吸附法测定赤霉素(GA)、脱落酸(ABA)含量, 结合统计学方法评估处理效果。 **结果** 栽培种子成熟度差异显著, 纵轴长相差1~3倍, TTC染色面积约50%~90%; 筛分后大于30目种子占比54.80%, 其千粒重(125.46 ± 3.03 mg)和染色率(78.67%)最高。9%NaClO处理5 min可显著提升萌发性能, 大于30目种子萌发率达91.57%(对照组44.80%), 发芽周期由18 d缩短至7 d。生理分析显示, 处理组可溶性糖含量提高7.15倍, SOD和POD活性分别提升1.93倍和1.53倍, 且MDA含量未显著增加。内源激素动态分析表明, NaClO促进ABA代谢(36 h下降8.24%)并加速GA合成(24 h增加33.65%)。 **结论** 建议将大于30目种子占比作为优良种子的评定标准, 以9%NaClO处理5 min进行播种前处理。

关键词: 蔷薇红景天; 种子; 筛分; 次氯酸钠; 萌发率

中图分类号: S567

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2026)04-0297-06

蔷薇红景天(*Rhodiola rosea* L.)是景天科多年生草本植物, 生于海拔1800~2700米的山坡林下或草坡上, 被收载于《新疆维吾尔自治区维吾尔药材标准》和《美国药典》中^[1-2]。蔷薇红景天提取物在美国和北欧地区常作为功能性食品和膳食补充剂的重要原料使用, 我国是国际上蔷薇红景天提取物的主要提供者^[3], 资源需求量大。由于过度采集, 蔷薇红景天野生资源已极其紧缺, 当前被收录于2022版《中国药用植物红皮书》《国家重点保护野生植物名录(第二批)》和《濒危野生动植物种国际贸易公约》附录II, 属于国家二级保护植物。

蔷薇红景天种子萌发率低、缺乏标准化育种流程, 制约其栽培产业发展^[4-5]。其萌发受限主要源于种子细小、成熟度不均、生理后熟、种皮障碍及内源激素失衡^[6]。传统赤霉素促萌技术存在周期长(12~24 h)、操作繁琐、降低幼苗抗逆性等缺点^[7-9]。次氯酸钠(sodium hypochlorite, NaClO)兼具消毒与破眠双重功能, 在药用植物种子处理

中潜力显著(如显著提升喜树、岩黄连种子萌发率)^[10-11]。然而, 现有研究多集中于NaClO的消毒效应^[12], 对其在微小型种子中通过氧化应激调控内源代谢的研究尚不充分。

1 材料

试验所用蔷薇红景天种子采自河北承德围场栽培基地, 原植物经中央民族大学刘金欣副教授鉴定为蔷薇红景天, 并经DNA条形码技术进行复核, 冷藏保存于装有干燥剂的离心管中。

NaClO溶液(批号: 20240720)购自天津北联精细化学品开发公司; 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)粉末(批号: PH1792)购自沃瑞达实验试剂公司; 蛋白定量试剂盒(批号: A045-4-2)购自南京建成生物工程研究所; 植物可溶性糖含量检测试剂盒(批号: BC0035)、淀粉含量检测试剂盒(批号: BC0705)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活

资助项目: 国家中医药管理局科技司项目(BJTH-2024-02F-0008)

作者简介: 李欣益(1999—), 女, 硕士研究生在读, 研究方向: 中药鉴定学。

*通信作者: 石林春(1983—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 中药鉴定学; E-mail: linchun_shi@163.com。

性检测试剂盒(批号:BC5165)、过氧化物酶(peroxidase, POD)活性检测试剂盒(批号:BC0095)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性检测试剂盒(批号:BC0205)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量检测试剂盒(批号:BC0025)均购自北京索莱宝科技公司。赤霉素(gibberellin, GA)定量检测试剂盒(批号:ZJF1614)和脱落酸(abscisic acid, ABA)ELISA试剂盒(批号:JZF0146)均购自南京博研生物科技有限公司。

酶标仪为上海艾研生物科技有限公司TecanM 1 000型,生化培养箱为上海一恒科学仪器公司BPC-150F型。

2 方法

2.1 种子筛分及DNA条形码分析

过20目筛去除大颗粒杂质(如果皮碎片、枝梗等),收集通过20目筛的种子进行后续30、40、50目筛分,获得不同规格的蔷薇红景天种子。蔷薇红景天种子DNA条形码分析依照《中草药种子DNA条形码分子鉴定》^[6]。

2.2 种子生物指标测定

千粒重=1 000×称定重量/该重量下的种子数目(每种规格种子随机选取一部分种子,称定重量后,在体视显微镜下观测并记录种子数目,再换算成1 000粒种子的重量,取6次平均值)。

染色率=被染色种子数/供试种子总数×100%(每种规格种子随机选取50粒于离心管中,用蒸馏水浸泡24 h,加入1% TTC溶液,在25 ℃黑暗条件下染色48 h,染色完成后用蒸馏水反复冲洗3次,在体视显微镜下观察染色情况,重复3次取平均值)。

2.3 次氯酸钠处理及萌发实验

所有规格的蔷薇红景天种子均先用蒸馏水浸泡40 min。每种规格均设置对照组(蒸馏水)和5%、7%、9%浓度NaClO处理组,每组50粒,每组设3次平行重复,蒸馏水(对照组)或NaClO浸泡5 min,蒸馏水洗涤3次后放入铺有2层湿润滤纸的培养皿中进行萌发试验。

培养皿置于恒温培养箱中,培养温度(25±1) ℃,光照时间12 h·d⁻¹。每天记录新发芽数目,统计萌发率、发芽势和发芽指数:

萌发率=萌发期间所有正常萌发种子数/供试种子总数×100%

发芽势=萌发期间萌发数目达到最多时的种子数/供

试种子总数×100%

发芽指数=Σ(Gt/Dt)=萌发期间(每天发芽数/当天发芽日数)的总和

2.4 生理生化指标和内源性激素测定

收集对照组及处理组的种子和种苗,保存于-80 ℃冰箱中,依照试剂盒说明书,进行可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白、SOD、POD、CAT、MDA、GA和ABA的含量测定。

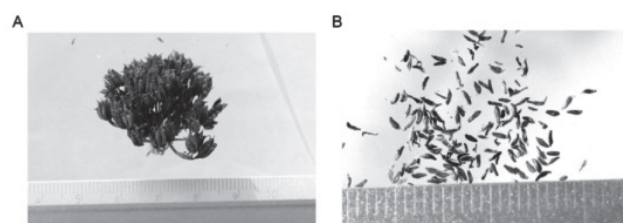
2.5 统计学分析

使用Microsoft Excel 2021软件进行数据整理。采用SPSS 27.0软件进行单因素方差(ANOVA)和邓肯多重范围检验的显著性差异分析,以及皮尔逊相关性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用 GraphPad Prism 9.0和 Origin 2024软件作图。

3 结果

3.1 栽培蔷薇红景天种子形态特征

蔷薇红景天果序由伞房花序发育而成,每株10余枚,果实伞状排列于直立果序轴顶端。果实为小型多心皮蓇葖果,风铃状,长6~8 mm,喙长约1 mm,成熟时褐色。成熟后沿心皮腹缝线开裂,多为4室,常含种子1~3粒。种子群体均匀度差,依成熟度呈棕、深棕或黑色,披针形或倒卵形,纵轴长0.5~2 mm,横轴约0.5 mm,一侧具狭翅。个体大小差异显著,较大种子重量可达较小者的1~3倍,千粒重约71.06±7.58 mg(图1)。



注:A.蔷薇红景天果荚形态特征;B.蔷薇红景天种子形态特征。

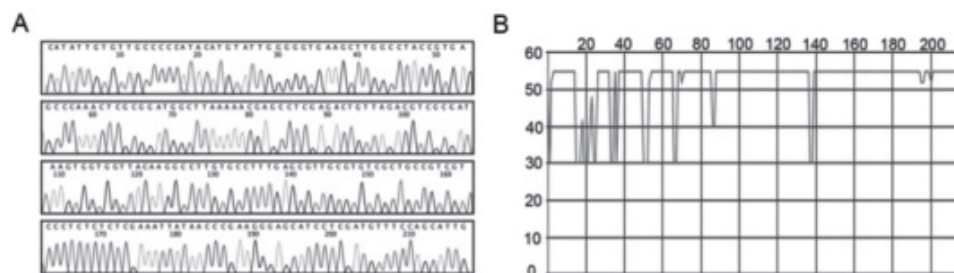
图1 蔷薇红景天的果荚和种子形态特征

3.2 栽培蔷薇红景天种子的ITS2序列特征

依照《中草药种子DNA条形码分子鉴定》的操作指南,蔷薇红景天种子属微小型种子,依照四分法称取3 mg后按照“微型种子DNA条形码鉴定方法”进行操作,所获ITS2序列峰图的峰高和峰间距均匀、信噪比高、基线平稳,碱基通过颜色编码清晰可辨,未出现重叠峰、缺失峰

或移码峰。该序列长217 bp,GC含量为52.99%,整体质量较高,Phred分数均在30以上,表明种子在分子DNA水平的净度较高。经比较,所获ITS2序列与中药材DNA

条形码数据库中蔷薇红景天*Rhodiola rosea* L.的序列一致(图2)。



注:A.蔷薇红景天种子ITS2序列峰图;B.蔷薇红景天种子Quality值分布图。

图2 蔷薇红景天种子DNA条形码序列测定结果

3.3 栽培蔷薇红景天种子筛分和活力评价

蔷薇红景天种子于蓇葖果开裂后收集,经20目筛初除杂,再依次过30目、40目、50目筛,弃去小于50目部分,获得未过筛、大于30目、30~40目、40~50目四个规格种子。各规格占比为:大于30目54.80%,30~40目39.10%,40~50目2.80%;其千粒重分别为 125.46 ± 3.03 mg、 110.26 ± 4.13 mg、 98.86 ± 7.24 mg。TTC染色活力检测显示,

过筛种子(大于50目)染色率及染色面积均显著高于未过筛种子。大于50目种子染色率均大于60.00%,其中30~40目种子染色率最高(78.67%),为未过筛种子(48.33%)的1.62倍;大于30目及30~40目种子饱满度高,染色面积占整体80%以上(图3)。



图3 TTC法不同规格种子染色情况

3.4 不同规格不同浓度NaClO处理种子的萌发能力分析

4种规格(未过筛、大于30目、30~40目、40~50目)蔷薇红景天种子分别经蒸馏水(对照)及5%、7%、9%NaClO(5 min)处理。结果表明:NaClO处理显著提高所有规格种子的萌发率、发芽势、发芽指数,并缩短萌发周期至7 d。萌发率与种子规格呈正相关。不同浓度处理间萌发指标差异显著,9%NaClO效果最优,使各规格萌发率均大于80.00%。大于30目种子在9%处理下萌发率达91.57%,为对照(44.80%)的2.04倍。大于30目与30~40目种子各处理下差异不显著,但与40~50目及未过筛种子差异显著(图4,图5)。

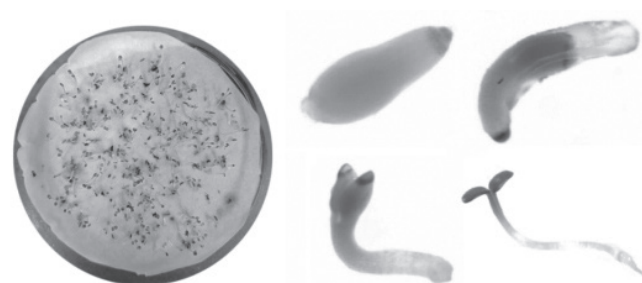
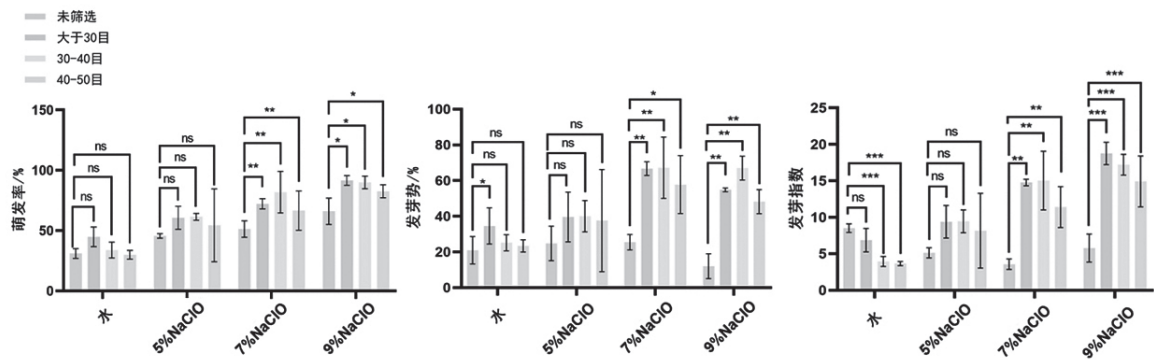


图4 NaClO处理蔷薇红景天种子的萌发过程



注:水为对照组,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,**** $P<0.0001$,ns无显著性差异。

图5 不同浓度NaClO处理萌发指标测定结果

3.5 不同规格不同浓度NaClO处理种子的可溶性营养物质、抗氧化酶和MDA含量变化

本研究分析了4种规格蔷薇红景天种子对不同浓度NaClO(5%、7%、9%)及蒸馏水(对照)处理的生理响应(表1)。结果表明:NaClO处理,特别是9%浓度,显著提高种子可溶性糖含量(较对照提高7.15倍),但对可溶性淀粉和蛋白含量影响不显著。在抗氧化酶方面,NaClO显著

增强SOD和POD活性(与对照差异显著),且活性随浓度增加而升高;9%处理使SOD和POD活性分别提升1.93倍和1.53倍。CAT活性对5%和7%处理响应不显著,但9%处理会降低其活性。NaClO处理有降低MDA含量的趋势,但与对照无显著差异。

表1 不同浓度NaClO处理后生理指标测定结果($\bar{x}$, $n=3$)

NaClO 浓度	可溶性糖 /mg·g ⁻¹	可溶性淀粉 /mg·g ⁻¹	可溶性蛋白 /mg·g ⁻¹	SOD/U·g ⁻¹	POD/U·g ⁻¹	CAT/U·g ⁻¹	MDA/nmol·g ⁻¹
对照组	3.88	0.73	20.71	86.23	585.97	354.31	311.70
5%	6.31	0.89	20.89	110.20	529.75	290.83	197.87
7%	24.37	0.59	12.85	115.51	917.23	310.68	233.31
9%	27.75	0.46	19.44	166.36	897.89	140.06	206.20

3.6 不同浓度NaClO处理种子内源性激素含量变化

NaClO浓度与时间显著调控蔷薇红景天种子ABA与GA含量(表2,表3)。低浓度(如5%)处理,ABA呈波动变化;高浓度(9%)则先升(12 h达初始值1.16倍)后降再升。相比起始值,24~72 h后除5%处理外ABA普遍升高;但关键在9%处理36 h,ABA显著下降8.24%。NaClO处理(除

蒸馏水)均显著提升GA含量,各浓度均在短时间内起效。9%处理24 h后,GA较对照增幅达峰值(33.65%)。处理36 h时,各浓度下GA显著升高,同步伴随ABA显著下降(尤其高浓度),表明激素平衡明确转向打破休眠。

表2 不同浓度NaClO处理的ABA含量变化($\bar{x}$, $n=3$)

内源激素	时间 (h)	对照组	5%	7%	9%
ABA (ng·mL ⁻¹)	0	38.17	38.57	38.43	38.36
	12	40.67	34.60	37.90	44.53
	24	37.87	40.53	40.33	40.37
	36	44.67	36.40	36.40	35.20
	48	35.90	40.67	38.57	36.40
	60	40.40	38.83	42.50	44.47
	72	39.57	36.67	40.37	42.80

表3 不同浓度NaClO处理的GA含量变化($\bar{x}$, $n=3$)

内源激素	时间 (h)	对照组	5%	7%	9%
GA (ng·mL ⁻¹)	0	28.39	28.47	27.83	28.26
	12	30.27	36.87	32.30	34.23
	24	31.53	30.97	33.47	37.77
	36	33.27	34.03	31.97	34.67
	48	27.30	32.37	30.70	32.17
	60	31.13	32.37	37.87	35.90
	72	29.93	35.47	38.73	36.60

4 讨论

红景天属植物受中高海拔低温胁迫影响,常致种子发育停滞、成熟度与饱满度差^[13]。本研究在蔷薇红景天中观察到类似现象,其具4室小蓇葖果结籽率低(常1~3粒),与长鞭红景天胚珠高损失率一致^[13],表明胚珠发育障碍在属内普遍存在。为评估种子质量,采用筛分分级,显微观察显示:大于20目部分主要为果皮等杂质,小于50目部分多为劣质种子残片。关键分析(千粒重、TTC染色、蒸馏水萌发)证实不同规格种子间存在显著差异,饱满度是影响萌发(萌发率、发芽势、发芽指数)的关键因素,此结论与柴胡、龙胆等小粒药用植物研究相印证^[14]。大于30目种子经蒸馏水浸泡后,其萌发性能接近40~50目种子的2倍。因此,大于30目种子占比应作为评价蔷薇红景天优质种子的核心标准之一。为提升优质种子比例,亟须综合优化栽培期管理(肥水及密度调控)、加强采收期管理,并积极推进高产优质新品种选育。

种子休眠作为重要的环境适应策略,在野生植物中广泛存在^[15]。蔷薇红景天种子萌发特性显著受限,预实验显示蒸馏水浸泡下萌发率仅31.02%、发芽势20.94%、周期约18 d,远低于常见作物及药用植物^[16-17]。其萌发障碍主要归因于种子微小、种皮硬实及透水性差,通常需长时间浸泡(24 h),与传统赤霉素(GA)处理需求(12~24 h)一致^[4,18]。然而,GA处理不仅耗时,且易诱发“玻璃苗”等风险^[19-20]。9%NaClO处理5 min可高效破除休眠,将大于30目种子的萌发率显著提升至90.00%。同时该处理诱导轻度氧化应激,显著激活种子抗氧化防御系统(SOD活性提升1.93倍)并提高可溶性糖含量,为萌发提供物质与能量基础。此外,该处理显著调控内源激素平衡,高浓度处理虽初期短暂升高ABA,但后期促进其显著降解^[21],有效解除萌发抑制。综上,建议在规模化育苗中优先筛选大于30目种子,并应用9%NaClO处理5 min的优化方案,以协同实

现高效破眠、高萌发率与优质幼苗培育。

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]. 北京:科学出版社,1984.
- [2] 郭闫闫,侯晓叶,赵明芬,等. 基于生物信息学、机器学习及动物实验揭示天香丹调控胆汁酸代谢治疗动脉粥样硬化的作用[J]. 海南医学院学报,2024,30(21):1644-1654.
- [3] Gan Z, Fang X, Yin C, et al. Extraction, purification, structural characterization, and bioactivities of the genus *Rhodiola* L. polysaccharides: a review[J]. Int J Biol Macromol, 2024: 133614.
- [4] 邱远金,谭勇,王绍明,等. 不同化学药剂对野生蔷薇红景天种子萌发的影响[J]. 种子,2008,27(12):34-38.
- [5] 袁伟博,刘力宽,曾阳,等. 红景天种质资源概况及其应用进展[J]. 北方园艺,2024,(13):116-123.
- [6] 宋经元,刘金欣,石林春,等. 中草药种子DNA条形码分子鉴定[M]. 北京:科学出版社,2024.
- [7] 何淑玲,马令法,杨敬军,等. 不同浓度尿素对唐古特红景天种子萌发的影响[J]. 北方园艺,2013,(3):173-175.
- [8] 李龙根,何丽萍. 不同光照和赤霉素对高山红景天种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 中药材,2011,34(3):327-331.
- [9] 秦佳梅,张卫东,田洪. 红景天种子休眠与其解除方法[J]. 特产研究,1999,(2):45-46.
- [10] 徐颖莹,黄明亮,单梅,等. 当年生喜树种子的无菌发芽及幼苗生长[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2014,40(3):277-280.
- [11] 潘燕林,郭伦发,王新桂,等. 岩黄连种子萌发特性研究[J]. 广西植物,2023,43(3):580-586.
- [12] 周武先,李大荣,周亮,等. 威丰白术种子生物学特性研究[J]. 湖北农业科学,2022,61(23):105-110.
- [13] 郑维列,田大伦,权红,等. 5种植物水浸液对西藏长鞭红景天种子萌发的化感作用[J]. 东北林业大学学报,2009,37(1):32-34.
- [14] 张东佳,白玉德,彭云霞,等. 成熟度和饱满度对柴胡种子

- 发芽率的影响[J]. 中国种业, 2023, (9): 111-115.
- [15] Bewley J D, Bradford K J, Hilhorst H W M, et al. Seeds: Physiology of development, germination and dormancy[M]. 3rd ed. New York: Springer, 2013: 392.
- [16] 李立勇. 快速检测玉米种子发芽率方法研究[J]. 种子科技, 2023, 41(12): 23-25.
- [17] 李秋莹, 于婵, 周艳, 等. 铬胁迫对丹参种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 种子, 2024, 43(1): 124-129.
- [18] 王强, 阮晓, 颜启传. 植物激素调节和预先冷处理对破除红景天种子休眠和发芽的影响(英文)[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2005, 31(4): 423-432.
- [19] Shah S H, Islam S, Mohammad F, et al. Gibberellic acid: a versatile regulator of plant growth, development and stress responses[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2023, 42(12): 7352-7373.
- [20] Kaur H, Nazir F, Hussain S J, et al. Gibberellic acid alleviates cadmium-induced seed germination inhibition through modulation of carbohydrate metabolism and antioxidant capacity in mung bean seedlings[J]. Sustainability, 2023, 15(4): 3790.
- [21] Wang L, Li M, Zhang Q, et al. High-Concentration NaClO Promotes ABA Degradation[J]. Plant Science, 2018, 273: 89-97.
- (收稿日期: 2025-06-17)

补肾活血汤对骨质疏松性踝关节骨折术后效果

侯朝辉, 李百华, 陈向军

(濮阳市中医院骨一科, 河南 濮阳 457000)

摘要: **目的** 观察补肾活血汤对骨质疏松性踝关节骨折术后效果的影响。**方法** 将2022年5月—2025年1月在濮阳市中医院接受切开复位内固定术治疗的106例骨质疏松性踝关节骨折患者采用随机法分为2组。常规组术后给予常规治疗, 汤剂组术后在常规治疗基础上采用补肾活血汤治疗。记录2组患者肿痛消失时间、术后4周与8周的骨痂评分、骨折愈合时间、完全负重时间、并发症情况。采用美国矫形外科足踝协会(AOFAS)评分评估2组患者踝关节功能, 采用视觉模拟评分(VAS)评估2组患者疼痛程度, 采用中医证候积分评估2组患者症状严重程度。采用酶标仪检测2组患者骨代谢指标水平, 采用量角器测量2组患者踝关节主动活动范围。**结果** 汤剂组肿痛消失时间(8.36 ± 1.47)d、骨折愈合时间(59.54 ± 7.19)d、完全负重时间(73.35 ± 8.06)d短于常规组, 术后4周与8周骨痂评分[(1.34 ± 0.26)分和(2.34 ± 0.22)分]高于常规组($P < 0.05$)。2组治疗前骨代谢指标比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。2组治疗后碱性磷酸酶(ALP)、I型胶原交联C-末端肽(CTX-I)较前降低, 同时汤剂组治疗后较常规组更低($P < 0.05$); 2组治疗后I型胶原氨基端肽(PINP)、骨钙素(OC)较前升高, 同时汤剂组治疗后较常规组更高($P < 0.05$)。2组治疗前AOFAS评分、VAS评分、中医证候积分比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。2组治疗后VAS评分、中医证候积分较前降低, 同时汤剂组治疗后较常规组更低($P < 0.05$); 2组治疗后AOFAS评分较前升高, 同时汤剂组治疗后较常规组更高($P < 0.05$)。2组治疗前踝关节主动活动范围比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。2组治疗后踝关节背伸、跖屈活动范围较前升高, 同时汤剂组治疗后较常规组更高($P < 0.05$)。汤剂组累计并发症发生率与常规组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 补肾活血汤用于骨质疏松性踝关节骨折钢板固定术后可改善骨代谢, 促进骨折愈合, 加快踝关节功能恢复。

关键词: 补肾活血汤; 骨质疏松性踝关节骨折; 切开复位内固定术; 并发症; 骨代谢

中图分类号: R683.42

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2026)04-0302-06

资助项目: 河南省第三批中医药青苗人才项目(豫卫中医药科教【2024】4号)

作者简介: 侯朝辉(1991—), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 中医骨伤科学; E-mail: houzhaohui199109@163.com。