

DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202003027

不同播种密度及种子挥发物柠檬烯对三七种子萌发的影响*

马文敬¹, 刘爽¹, 刘屹湘¹, 杨敏¹, 何霞红^{1,2}, 朱有勇¹, 朱书生¹, 黄惠川^{1**}

(1. 云南农业大学 植物保护学院, 云南生物资源保护与利用国家重点实验室,
云南 昆明 650201; 2. 西南林业大学, 云南 昆明 650224)

摘要:【目的】研究不同播种密度及三七种子挥发物中的关键化合物对三七种子萌发的影响, 为三七生产合理密植和直播栽培提供科学依据。【方法】通过设置随机区组试验, 分析 400、144、100、36 和 25 株/m² 5 种不同播种密度对三七的出苗率、存苗率、农艺性状和皂苷含量的影响; 利用气相色谱—质谱联用技术 (GC-MS) 分析三七种子挥发物成分及相对含量; 研究三七种子挥发物中关键化合物柠檬烯对三七种子萌发的影响。【结果】播种密度 144 株/m² 下, 三七种子的存苗率显著高于其他密度处理 ($P<0.05$); 不同密度处理之间的地上部鲜质量、地上部干质量、地下部鲜质量和地下部干质量无显著性差异 ($P>0.05$); 100 和 144 株/m² 种植密度下的单株产量高于其他种植密度但差异不显著 ($P>0.05$); GC-MS 结果表明: 三七种子挥发物的主要成分为烯烴类化合物 (相对含量 39.44%), 其中柠檬烯相对含量最高, 且在体积分数为 2 $\mu\text{L/L}$ 时能够显著促进三七种子的萌发 ($P<0.05$)。【结论】三七种子挥发物中的柠檬烯在一定体积分数范围内能够促进三七种子的萌发, 采用 144 株/m² 的播种密度三七的存苗率最高。

关键词: 三七; 播种密度; 种子萌发; 柠檬烯

中图分类号: S 567.236.047

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2021) 03-0479-08

Effects of Different Sowing Densities and Seed Volatile Limonene on the Seed Germination of *Panax notoginseng*

MA Wenjing¹, LIU Shuang¹, LIU Yixiang¹, YANG Min¹, HE Xiahong^{1,2},
ZHU Youyong¹, ZHU Shusheng¹, HUANG Huichuan¹

(1. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: [Purpose] To study the effects of different sowing densities and the function of key compounds in the volatiles of *Panax notoginseng* seeds on the seed germination of *P. notoginseng*, so as to provide a scientific basis for reasonable sowing density of *P. notoginseng* production.

[Method] We analyzed the germination rates, survival rates, agronomic traits and yield of *P. notoginseng* under five different sowing densities which respectively were 400, 144, 100, 36 and

收稿日期: 2020-03-11

修回日期: 2021-01-14

网络首发时间: 2021-05-20 10:36:54

*基金项目: 云南省重大科技专项 (2016ZF001); 云南绿色食品国际合作研究中心项目 (2019ZG00901-05); 国家重点研发计划项目 (2017YFC1702502); 中国工程院云南院士工作站 (2018IC063)。

作者简介: 马文敬 (1993—), 女, 山东菏泽人, 在读硕士研究生, 主要从事作物连作障碍及生态种植原理及技术研发。E-mail: wjing_ma@163.com

**通信作者 Corresponding author: 黄惠川 (1985—), 男, 云南昆明人, 博士, 副教授, 主要从事生物多样性与作物病害控制相关研究。E-mail: absklhch@gmail.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.s.20210519.1634.003.html>



25 seeds/m². Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the volatile components and relative contents in *P. notoginseng* seeds, and to study the effect of the key compound limonene in the seed volatiles of *P. notoginseng* on the germination of *P. notoginseng* seeds.

[**Result**] The survival rate of *P. notoginseng* seeds at the sowing density of 144 seeds/m² was significantly higher than other treatments ($P<0.05$). There was no significant difference in the fresh weight of shoot, dry weight of shoot, fresh weight of root and dry weight of root ($P>0.05$). The single plant dry weight under 100 and 144 seeds/m² were higher than those under other sowing densities but not significantly ($P>0.05$). The dominating sort of volatiles of *P. notoginseng* seeds was alkene (relative content 39.44%). Among them, limonene had the highest relative content, and could significantly promote the germination of *P. notoginseng* seeds at a concentration of 2 $\mu\text{L/L}$ ($P<0.05$).

[**Conclusion**] Limonene in the seeds volatiles of *P. notoginseng* can promote the germination of *P. notoginseng* seeds within a certain concentration range, and the seedling survival rate is the highest under the sowing density of 144 seeds/m².

Keywords: *Panax notoginseng*; sowing density; germination; limonene

三七 [*Panax notoginseng* (Bruk) F.H.Chen] 为五加科人参属植物, 是中国重要的中药材大品种之一。合理密植对促进三七生长和提高三七品质具有重要意义, 不同种植密度对三七的出苗和生长具有显著影响, 但不同密度对三七种子萌发和品质形成的影响, 尤其是三七种子挥发物在此过程中的化感功能尚无研究报道。因此, 本研究旨在探明合理的三七播种密度以及在此过程中种子挥发物中关键化合物的功能, 为进一步指导生产合理密植和合理直播种植、实现三七高质量生态化生产提供科学依据。

种植密度对植物的生长发育有着重要的影响, 合理的种植密度不仅能促进植株的生长发育, 还能节约种植成本、提高土地利用率, 进而增加单位面积的经济效益^[1]。张春梅等^[2]研究发现: 合理的播种密度能够提高百里香种子的萌发率且能显著提高种子的发芽势; 安霞等^[3]研究发现: 相比 3 万株/666.7 m² 和 8 万株/666.7 m² 的种植密度, 5 万株/666.7 m² 的种植密度能够显著提高苕麻的出苗率, 并能有效增加植株茎粗和地上部分的鲜质量; 李丽淑等^[4]也发现: 适宜的种植密度能够显著提高姜三七的产量; BRAZ 等^[5]发现: 合理的种植密度能够显著促进向日葵的干物质积累并提高植株的叶面积指数, 进而促进植株后期的生长发育。种植密度的改变一方面会引起植物种内资源竞争进而影响植株的生长发育, 另一方面也能影响植物化学通讯进而调控植株的生

长和代谢。

植物挥发物被认为是潜在影响种子萌发和生长的关键因子之一; 其中, 萜烯类作为植物体内最大的一类次生代谢物, 对植物的生长发育具有重要的调控作用。FISCHER 等^[6]认为: 植物挥发物中的萜烯类化合物对植物种子的萌发和生长具有显著的影响; LEE 等^[7]发现: β -蒎烯和 3-蒎烯等萜烯类化合物对番茄种子的萌发具有显著的促进作用; ARECO 等^[8]研究发现: 一定浓度的 α -蒎烯能够显著促进玉米种子根系的伸长。除蒎烯外, 柠檬烯是天然植物中分布最广也是最重要的萜烯类化合物。潘丹^[9]研究发现: 柠檬烯能够显著促进黄岑种子的萌发。但除此之外, 绝大部分有关柠檬烯的研究均围绕其抑菌活性展开, 如柠檬烯对指状青霉孢子萌发的作用及对黑曲霉、啤酒酵母和枯草芽孢杆菌生长的抑制等^[10-12]。然而, 柠檬烯对植物生长发育的诱导调控等功能还有待进一步研究。

朱有勇团队在生产实践中发现: 三七高密度播种能够提高种子的发芽势及发芽率(未发表), 然而这一现象背后的科学原理尚无文献报道。明确最适宜三七种子萌发的播种密度, 利用气相色谱—质谱联用技术分析鉴定在此过程中的关键化合物, 并验证该化合物对三七种子萌发的影响, 初步探明三七种子挥发物中关键化合物对三七种子萌发的影响, 可为揭示不同播种密度影响三七种子萌发的化感机制提供数据支撑, 同时为指导

生产设计合理的播种密度提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

三七种子购于云南文山三七国际交易市场; 生菜种子购于高华种子有限公司; 葡萄糖、吸附树脂、尼龙滤膜 (0.22 μm) 等主要试剂购自上海源叶科技有限公司, 柠檬烯 (213867) 和丙酮 (270725) 购自 Sigma-Aldrich 公司, 正己烷 (110-54-3) 购自 Fisher Chemical 公司。主要设备仪器: 气相色谱—质谱联用仪 (Shimadzu GCMS-QP2010 SE)、移液器 (Eppendorf, 德国) 和挥发物收集装置 (自制)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同种植密度小区试验设置

田间试验设置于云南农业大学大河桥教育教学实践基地 (下称大河桥基地) 大棚中, 试验共设置 400、144、100、36 和 25 株/ m^2 5 个播种密度, 每个密度设置 4 个重复, 每个重复 20 m^2 。

1.2.2 农艺性状的测定

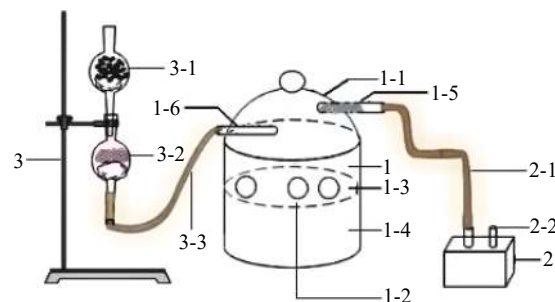
分别调查不同播种密度下三七的出苗率和存苗率, 每个重复随机选取 6 m^2 进行调查。采用五点取样法分别调查不同播种密度下三七的株高、地上部和地下部鲜质量和干质量以及单位面积产量, 每个重复调查 20 株。

1.2.3 三七种子挥发物的收集

利用自制收集装置 (图 1) 收集三七种子的气态挥发物。取 1.5 kg 三七种子, 洗净后置于干燥玻璃缸中, 打开空气泵进行抽气, 外界空气经活性炭吸附杂质后进入变色硅胶吸收水分, 然后进入干燥缸内, 空气经干燥缸后与挥发物一起进入吸附柱进行吸附, 剩余空气进入空气泵并排回到环境中。种子挥发物采用此装置连续收集 90 h, 并设置 3 个重复。

1.2.4 三七种子挥发物的分离鉴定

收集完毕后取下吸附柱, 用正己烷洗脱出 5 mL, 然后用氮气吹仪浓缩至 3 mL, 最后用 0.22 μm 滤膜过滤并装入棕色的样品瓶中, 利用 GC-MS 上机检测。GC 条件: SH-Rxi-5Sil MS 色谱柱 (30.0 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$), 起始柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 以 3.0 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 80.0 $^{\circ}\text{C}$ 后, 以 5.0 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 260.0 $^{\circ}\text{C}$, 保持 30.00 min。载气为氮气, 进



注: 1. 玻璃室; 1-1. 玻璃罩; 1-2. 圆形孔洞; 1-3. 圆形玻璃板; 1-4. 进气室; 1-5. 吸附树脂柱; 1-6. 进气管; 2. 吸气泵; 2-1. 吸气泵的吸气管; 2-2. 吸气泵的出气管; 3. 铁架台; 3-1. 活性炭干燥器; 3-2. 变色硅胶干燥器; 3-3. 进气管。

Note: 1. glass chamber; 1-1. glass cover; 1-2. circular hole; 1-3. circular glass plate; 1-4. air inlet chamber; 1-5. adsorption resin column; 1-6. air inlet duct; 2. suction pump; 2-1. suction tube of suction pump; 2-2. suction tube of suction pump; 3. iron stand; 3-1. activated carbon dryer; 3-2. color-changing silica gel dryer; 3-3. intake pipe.

图 1 挥发物收集装置示意

Fig. 1 Schematic of volatiles collection device

样口温度 250.0 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 2.0 μL , 进样方式为分流进样, 分流比 10 : 1。MS 条件: EI 电离源, 离子源温度 230.0 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度 250.0 $^{\circ}\text{C}$, 扫描范围 35~500 m/z , 采集方式 Scan, 扫描间隔 0.30 s。挥发物成分鉴定通过 NIST14s 谱图库检索保留时间, 选取相似度 80% 以上的化合物, 通过峰面积的百分比确定化合物的相对含量。

1.2.5 柠檬烯对种子萌发的测定

在组培瓶中加入 100 g 灭菌土, 每瓶均匀点播 9 粒三七种子, 加入适量灭菌 dd H_2O 。将灭菌后的 1.5 mL 离心管盖置于组培瓶中央。柠檬烯处理设置 2、20 和 200 $\mu\text{L}/\text{L}$ 3 个体积分数并设置空白对照, 每个处理设置 4 个重复, 90 d 后记录三七出苗情况。在培养皿中放置 1 张灭菌滤纸并用灭菌水润湿, 在滤纸上放置 20 粒生菜种子, 将灭菌后的 1.5 mL 离心管盖置于培养皿中央, 分别向其中添加 0.5、1、5 和 10 $\mu\text{L}/\text{L}$ 4 个体积分数的柠檬烯标准品, 以等量的灭菌 dd H_2O 为对照, 每个处理设置 4 个重复, 7 d 后记录生菜种子的萌发情况。

1.2.6 试验数据处理方法

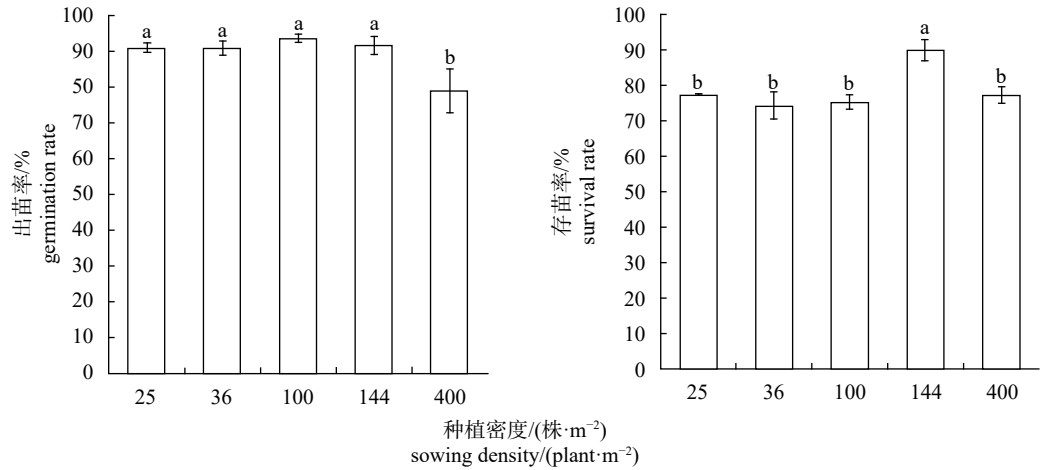
试验数据采用 IBM SPSS 19 以及 Microsoft Excel 2016 软件进行统计分析, 采用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性分析, 每个测定进行 4 个重复, 结果以“平均值 $\pm$ 标准误差”表示。利用 Microsoft Excel 2016 软件进行图表制作。

2 结果与分析

2.1 不同密度处理对三七出苗及存苗的影响

由图 2 可知：种植密度为 100 株/m² 的三七

出苗率最高，为 93.73%；种植密度为 400 株/m² 的三七出苗率最低仅为 79.08%。种植密度 144、100、36 和 25 株/m² 之间的三七种子出苗率没有显著性差异，但均显著高于 400 株/m² 密度处理。



注：不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)；下同。
Note: Different letters represent significant difference among different treatments ($P<0.05$); the same as below.

图 2 不同密度处理三七出苗率和存苗率比较

Fig. 2 The germination rates and survival rates of *P. notoginseng* under different sowing densities

由图 2 可知：种植密度为 144 株/m² 的三七存苗率为 90.00%，显著高于其他 4 个密度处理的三七种子 ($P<0.05$)，而种植密度为 25、36、100 和 400 株/m² 的三七存苗率分别为 77.33%、74.33%、75.33% 和 77.33%。

2.2 不同密度处理对三七农艺性状的影响

由表 1 可知：种植密度为 400 株/m² 的三七株高为 (11.72±0.20) cm，显著高于除种植密度为

144 株/m² 以外的其他密度下种植的三七。种植密度为 144、100、36 和 25 株/m² 的三七株高分别为 (11.03±0.25)、(10.24±0.30)、(10.44±0.18) 和 (10.33±0.30) cm。株高整体上随着种植密度的增加而增加，而地上部鲜质量、地上部干质量、地下部鲜质量和地上部干质量均无显著差异。种植密度为 144 株/m² 和 100 株/m² 的三七地下部鲜质量和干质量均高于其他种植密度处理。

表 1 不同密度处理对三七农艺性状的影响

Tab. 1 Effects of different densities on the agronomic traits of *P. notoginseng*

种植密度/(株·m ⁻²) sowing density/(plant·m ⁻²)	株高/cm plant height	地上部鲜质量/g fresh weight of shoot	地上部干质量/g dry weight of shoot	地下部鲜质量/g fresh weight of root	地下部干质量/g dry weight of root
400	11.72±0.20 a	0.63±0.07 a	0.12±0.01 a	1.42±0.20 a	0.42±0.03 a
144	11.03±0.25 ab	0.49±0.02 a	0.12±0.01 a	1.71±0.22 a	0.48±0.05 a
100	10.24±0.30 c	0.53±0.05 a	0.12±0.01 a	1.69±0.19 a	0.48±0.06 a
36	10.44±0.18 bc	0.49±0.02 a	0.11±0.01 a	1.53±0.26 a	0.42±0.03 a
25	10.33±0.30 bc	0.53±0.04 a	0.11±0.01 a	1.53±0.09 a	0.41±0.01 a

注：不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)；下同。
Note: Different letters represent significant difference among different treatments ($P<0.05$); the same as below.

2.3 不同密度处理对三七产量的影响

由表 2 可知：种植密度为 400 株/m² 的三七单位面积产量最高，为 129.71 g/m²；25 株/m² 的三七单位面积产量最低，为 7.98 g/m²。从单位面

积产量看，三七产量随着密度的增加而增加，但通过比较可见：100 和 144 株/m² 种植密度的单株产量 (地下部干质量) 高于 400、36 和 25 株/m² 种植密度的单株产量 (地下部干质量)。

表 2 不同密度条件处理下三七产量
Tab. 2 Effects of different densities on
yield of *P. notoginseng*

种植密度/(株·m ⁻²) sowing density/(plants·m ⁻²)	单株地下干质量/g root dry weight per plant	三七产量/(g·m ⁻²) yield
400	0.42±0.03 a	129.71±10.64 a
144	0.48±0.05 a	61.83±5.95 b
100	0.48±0.03 a	36.09±2.15 c
36	0.42±0.03 a	11.18±0.86 d
25	0.41±0.01 a	7.98±0.17 d

2.4 三七种子挥发物 GC-MS 分析结果

利用 GC-MS 从三七种子挥发物中共检测到烯烴类、烷烴类、酮类、苯类、醇类、酸类、酯类、醛类、酚类、萘类、酰胺类及硫化物共计 12 类物质, 共计 53 种(筛选相似度在 80% 以上)。其中, 烯烴类物质 16 种, 相对含量为 39.44%; 烷烴类物质 18 种, 相对含量为 22.44%; 酮类物质 3 种, 相对含量为 10.25%; 苯类物质 5 种, 相对含量 11.27%; 醇类物质 1 种, 相对含量为 0.56%; 酸类物质 1 种, 相对含量为 0.62%; 酯类物质 3 种, 相对含量为 3.48%; 醛类物质 1 种, 相对含量为 0.86%; 酚类物质 1 种, 相对含量为 8.61%; 萘类物质 2 种, 相对含量为 1.42%; 酰胺类物质 1 种, 相对含量为 0.68%; 硫化物 1 种, 相对含量为 0.35%(表 3)。

三七种子挥发物组成成分复杂, 不同种类的化合物相对含量差异明显, 主要以烯烴和烷烴类化合物为主, 其中, 烯烴类化合物的相对含量最高。通过收集三七种子挥发物共检测到 16 种烯烴类化合物, 相对含量最高的 3 种分别为柠檬烯、β-可巴烯和 D 大牛儿烯, 其中柠檬烯的相对含量最高, 为 7.74%(表 3)。

2.5 三七种子挥发物柠檬烯对种子萌发的影响

由表 4 可以看出: 空白对照处理下, 三七种子出苗率为 16.5%, 20 μL/L 柠檬烯处理条件下的三七种子出苗率为 13.8%, 200 μL/L 柠檬烯处理下的三七种子出苗率为 15.4%。2 μL/L 柠檬烯处理下的三七种子出苗率为 28.6%, 显著高于 20、200 μL/L 的处理和空白对照, 说明 2 μL/L 柠檬烯能显著促进三七出苗。

此外, 由表 5 可以看出: 1 μL/L 柠檬烯处理后的生菜种子萌发率为 88.33%, 显著高于 CK,

而其余 3 个处理对生菜种子的萌发均有一定程度的抑制。

3 讨论

播种密度与作物的生长发育有着密切的联系, 合理的种植密度能够提高作物的产量和品质。李漫^[13]研究发现: 在一定范围内提高种植密度, 能够显著增加春玉米的株高、茎粗和产量; 周永萍等^[14]研究发现: 提高种植密度可以显著增加棉花的茎粗、单株结铃数和单位面积的总成铃数; 武晓攀等^[15]研究发现: 随着种植密度的增加, 玉米品种北青 340 的穗长和千株质量先略微增加后下降, 穗粗和穗株数减少。本研究发现: 播种密度对三七种子的存苗率、株高等农艺性状均有不同程度的影响。播种密度 144 株/m² 时三七种子的出苗率和存苗率均高于其他播种密度, 且均显著高于生产上广泛使用的 400 株/m² 的播种密度。高密度播种条件下, 一方面三七种子可能受高浓度气态挥发物的影响, 抑制了种子的萌发从而降低了出苗率; 另一方面, 过高的播种密度导致植株生长后期的竞争效应加剧, 长势较弱的植株逐渐在资源竞争中被淘汰, 进而导致存苗率下降。然而, 虽然 400 株/m² 播种密度处理下三七的出苗率和存苗率都显著低于 144 株/m² 处理, 但由表 2 可以看出: 高密度播种处理下单位面积内三七的总株数和总产量仍处于较高水平, 因此, 目前生产上仍采用高密度播种的方式进行三七生产, 这也与崔秀明等^[16]的研究结果一致。

挥发性有机化合物介导的植物—昆虫、植物—微生物及植物—植物互作是当前国际研究的热点。国内外已有大量研究表明: 许多植物能够利用萜烯类、苯类、苯丙烷类和脂肪酸衍生物等挥发性有机化合物与周围环境中的昆虫、微生物和植物进行信号交流以保证植物的生长、发育、防御和生命周期等^[17]。植物受食草动物侵袭后, 能够通过释放绿叶挥发物 (green leaf volatiles, GLVs) 和诱导性挥发物 (herbivore-induced plant volatiles, HIPVs) 来诱导和增强植株的防御表达^[18-19], 并吸引食草动物的天敌以抵御侵袭^[20-21]。还有研究表明: 植株能对土壤中的芽孢杆菌、假单胞菌和根瘤菌等释放的挥发物, 如 3-羟基-2-丁酮、3-戊醇

表 3 三七种子挥发物的化学成分及相对含量

Tab. 3 Chemical components and relative contents of *P. notoginseng* seed volatiles

类别 type	化合物名称 compound	相似度/% similarity	保留时间/min retention time	相对含量/% relative content
烯烴类 alkene	(+)-柠檬烯 D-limonene	95	14.100	7.74
	β -可巴烯 β -copaene	92	28.735	5.04
	大牛儿烯 D germacrene D	93	28.735	5.04
	1-十一碳烯 1-undecene	97	16.725	5.03
	α -蒎烯 α -pinene	96	9.976	4.47
	缬草-4,7 (11)-二烯 valerena-4,7 (11)-diene	94	28.114	3.06
	1a,2,3,4,4a,5,6,7b-八氢-1,1,4,7-四甲基-, [1aR-(1a α ,4a,4a β ,7b α)]-1H-环丙蓝烯	93	28.222	2.27
	1H-cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a α ,4a β ,7b α)]-			
	α -可巴烯 α -copaene	94	25.931	1.18
	可巴烯 copaene	94	25.931	1.18
	α -萜荭茄油烯 α -cubebene	93	25.931	1.18
	1-甲醇,4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯 1,4-cyclohexadiene-1-methanol, 4-(1-methylethyl)-	81	22.062	0.86
	石竹烯 caryophyllene	95	27.135	0.68
	苯乙烯 styrene	95	8.300	0.47
	1,3,5,7-环辛四烯 1,3,5,7-cyclooctatetraene	95	8.300	0.47
	双环[4.2.0]辛-1,3,5-三烯 bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	94	8.300	0.47
	香橙烯 aromadendrene	83	27.383	0.30
烷烴类 alkane	6,6-二甲基-2-亚甲基-, (1S)-双环[3.1.1]庚烷	96	11.777	8.71
	bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-			
	十六烷 hexadecane	97	31.435	1.71
	十九烷 nonadecane	97	31.435	1.67
	十四烷 tetradecane	94	29.028	1.30
	正廿一碳烷 heneicosane	94	36.061	1.29
	十五烷 pentadecane	95	29.028	1.11
	二十烷 eicosane	93	28.954	0.96
	4,6-二甲基-十二烷 dodecane, 4,6-dimethyl-	94	23.098	0.91
	十三烷 tridecane	96	13.705	0.80
	十二烷 dodecane	97	20.585	0.65
	六甲基-环三硅氧烷 cyclotrisiloxane, hexamethyl-	85	6.048	0.64
	3,7-二甲基-癸烷 decane, 3,7-dimethyl-	91	15.372	0.60
	2,6,10-三甲基十五烷 2,6,10-trimethyltridecane	80	30.051	0.50
	十甲基-环戊硅氧烷 cyclopentasiloxane, decamethyl-	94	19.186	0.45
	1-碘-三十烷 triacontane, 1-iodo-	94	48.452	0.42
	1-碘-三十二(碳)烷 dotriacontane, 1-iodo-	87	38.422	0.37
酮类 ketones	2-甲基二十六烷 2-methylhexacosane	88	41.039	0.23
	1,1-二乙氧基-乙烷 ethane, 1,1-diethoxy-	91	3.973	0.12
	4-羟基-4-甲基-2-戊酮 2-pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	98	6.646	8.42
	1-(4-乙基苯基)-乙酮 ethanone, 1-(4-ethylphenyl)-	95	23.169	0.96
苯类 benzene	1-(2,4-二甲基苯基)-乙酮 ethanone, 1-(2,4-dimethylphenyl)-	82	22.604	0.87
	丁基苯基甲苯 butylated hydroxytoluene	94	29.451	5.31
	邻二甲苯 o-xylene	98	7.547	4.09
	乙苯 ethylbenzene	98	7.282	1.16
	甲苯 toluene	97	4.673	0.36
醇类 alcohol	1,2-二乙基-苯 benzene, 1,2-diethyl-	94	15.007	0.35
酸类 acids	2-(1,4,4-三甲基环己-2-烯基)乙醇 2-(1,4,4-trimethyl-cyclohex-2-enyl)-ethanol	87	31.517	0.56
酯类 ester	双(2-甲基丙基)酯-1,2-苯二甲酸 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester	93	39.219	0.62
醛类 aldehydes	乙二醇二乙酸酯 eicosyl acetate	96	43.686	1.43
	乙酸四十二烷基酯 tetracosyl acetate	95	43.686	1.43
	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	94	39.219	0.62
酚类 phenols	α -侧柏醛 α -thujenal	82	22.062	0.86
萘类 naphthalene	2,2'-亚甲基双[6-(1,1-二甲基乙基)]-4-甲基-苯酚	94	47.314	8.61
	henol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)]-4-methyl-			
	1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-, (1S-顺式) 萘	90	29.751	0.71
酰胺类 amides	naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	89	29.751	0.71
	1-异丙基-4,7-二甲基-1,2,3,5,6,8a-六氢萘			
硫化物 sulfide	1-isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	92	44.493	0.68
	N,N-二甲基十二酰胺 N,N-dimethyldodecanamide	97	4.228	0.35

表 4 不同体积分数柠檬烯对三七种子萌发的影响
Tab. 4 Effect of different concentrations of limonene on seeds germination of *P. notoginseng*

柠檬烯体积分数/($\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$) the concentration of limonene	柠檬烯体积/ μL the volume of limonene	萌发率/% germination rate
0.00	0.00	16.50±2.08 a
2.00	0.30	28.60±5.61 b
20.00	3.00	13.75±2.75 a
200.00	30.00	15.40±2.69 a

表 5 不同体积分数柠檬烯对生菜种子萌发的影响

Tab. 5 Effect of different concentrations of limonene on seeds germination of *Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort.

组别 group	柠檬烯体积分数/($\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$) the concentration of limonene	柠檬烯体积/ μL the volume of limonene	蒸馏水体积/ μL the volume of distilled water	萌发率/% germination rate
对照组 1 control 1	0.00	0.00	0.23	80.00±2.89 bc
试验组 1 test 1	0.50	0.23	0.00	71.67±1.67 ab
对照组 2 control 2	0.00	0.00	0.46	75.00±0.00 ab
试验组 2 test 2	1.00	0.46	0.00	88.33±1.67 c
对照组 3 control 3	0.00	0.00	2.30	80.00±2.89 bc
试验组 3 test 3	5.00	2.30	0.00	68.33±4.41 a
对照组 4 control 4	0.00	0.00	4.60	86.67±1.67 c
试验组 4 test 4	10.00	4.60	0.00	80.00±2.89 bc

本研究在三七种子挥发物中共发现 12 类化合物, 萜烯类是主要化合物类型, 相对含量为 39.44%; 其中, 萜烯类化合物柠檬烯的含量最高, 达 7.74%。研究结果表明: 适宜体积分数的柠檬烯能够促进三七种子的萌发, 而过低和过高体积分数的柠檬烯则会抑制三七种子的萌发, 在生菜种子上重复这一试验也得到了相似的结果, 而且生菜种子对于柠檬烯的浓度表现出更高的敏感性(表 5), 这一现象与 FISCHER 等^[6]报道的胡桃醌、龙脑等萜类化合物对 *Rudbeckia hirta* 种子萌发“低促高抑”的现象一致。这是否是较高播种密度下三七种子萌发率较高的原因还有待进一步验证。

然而, 由于三七种子在实际种植环境中面临的环境因子较为复杂, 三七种子释放柠檬烯是否受其他信号物质的诱导调控、不同播种密度下三七种子释放柠檬烯的量是否存在差异等仍不清楚, 因此, 进一步深入探明不同播种密度下柠檬烯刺激种子萌发的机制, 一方面有望在生产上利用柠檬烯作为种子萌发的处理制剂, 另一方面将有助于三七种植生产高质量高效率地发展。

和乙酰丙酮等做出响应, 改变自身的生长、代谢和防御^[22]。此外, 挥发性有机化合物在植物—植物互动中也发挥着重要的作用。研究发现: 拟南芥释放出的 GLV 能够调控体内 WRKYs 转录因子的表达和 γ -氨基丁酸 (GABA) 的生物合成, 从而调控根系生长^[23-24]。 α -蒎烯和 β -蒎烯等萜烯类化合物能增加拟南芥叶片中 ROS 的积累进而增强植株的抗性^[25-26]。

4 结论

播种密度对三七的出苗率和存苗率均有显著的影响。144 株/ m^2 的播种密度能够显著提高三七的存苗率, 采用这一播种密度对三七高质量高效率生产具有重要的实践意义。通过 GC-MS 分析鉴定出的三七种子挥发物中的萜烯类化合物柠檬烯在适宜体积分数范围内能够显著促进三七和生菜种子的萌发, 柠檬烯作为促进作物种子萌发的制剂具有一定的应用前景。

[参考文献]

[1] 王健. 农作物栽培技术及高产影响因素探究[J]. 农业科技与信息, 2016(2): 77. DOI: 10.15979/j.cnki.cn62-1057/s.2016.02.046.

[2] 张春梅, 闫芳. 不同温度、播种密度和覆土厚度对银斑百里香种子萌发的影响[J]. 北京联合大学学报(自然科学版), 2014, 28(3): 25. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0310.2014.03.005.

[3] 安霞, 陈常理, 骆霞虹, 等. 密度与覆盖对苧麻生长及产量的影响[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(7): 1080. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20190704.

[4] 李丽淑, 何海旺, 谭冠宁, 等. 主要栽培技术对“姜三七”产量与药效成分的影响[J]. 北方园艺, 2011(14): 168.

[5] BRAZ M R S, ROSSETTO C A V. Sunflower plants growth in accordance to the achenes vigour and sowing

- density[J]. *Ciencia Rural*, 2009, 39(7): 1989. DOI: [10.1590/S0103-84782009005000138](https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000138).
- [6] FISCHER N H, WILLIAMSON G B, WEIDENHAMER J D, et al. In search of allelopathy in the florida scrub: the role of terpenoids[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(6): 1355. DOI: [10.1007/BF02059812](https://doi.org/10.1007/BF02059812).
- [7] LEE S, YAP M, BEHRINGER G, HUNG R, et al. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth[J]. *Fungal Biology and Biotechnology*, 2016, 3(1): 7. DOI: [10.1186/s40694-016-0025-7](https://doi.org/10.1186/s40694-016-0025-7).
- [8] ARECO V A, FIGUEROA S, MARÍA T. COSA, et al. Effect of pinene isomers on germination and growth of maize[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2014, 55(55): 27. DOI: [10.1016/j.bse.2014.02.013](https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.02.013).
- [9] 潘丹. 核桃化感作用对黄芩种子萌发和幼苗生长的影响研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2007.
- [10] PLOOY W D, REGNIER T, COMBRINCK S. Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2009, 53(3): 117. DOI: [10.1016/j.postharvbio.2009.04.005](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.04.005).
- [11] 王笑. 柠檬烯对指状青霉孢子萌发的作用初探[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2015.
- [12] DAMBOLENA J S, LÓPEZ A G, CÁNEPA M C, et al. Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis[J]. *Toxicon Official Journal of the International Society on Toxinology*, 2008, 51(1): 37. DOI: [10.1016/j.toxicon.2007.07.005](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.07.005).
- [13] 李漫. 不同密度及灌溉方式对春玉米生长发育及产量的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2012.
- [14] 周永萍, 田海燕, 崔瑞敏. 不同种植密度对三个棉花品种生长发育和产量品质的影响[J]. *农学学报*, 2018, 9(12): 5.
- [15] 武晓攀, 孙佩, 许东旭, 等. 玉米新品种北青340不同密度对产量及机收相关性状的影响[J]. *农业科技通讯*, 2019(8): 166. DOI: [10.3969/j.issn.1000-6400.2019.08.051](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-6400.2019.08.051).
- [16] 崔秀明, 王朝梁. 播种密度对三七种苗产量和质量关系的研究[J]. *中药材*, 1989(8): 9.
- [17] BOUWMEESTER H, SCHUURINK R C, BLEEKER P M, et al. The role of volatiles in plant communication[J]. *The Plant Journal*, 2019, 100(5): 892. DOI: [10.1111/tpj.14496](https://doi.org/10.1111/tpj.14496).
- [18] ENGELBERTH J, ALBORN H T, SCHMELZ E A, et al. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101(6): 1781. DOI: [10.1073/pnas.030803-7100](https://doi.org/10.1073/pnas.030803-7100).
- [19] FROST C J, MESCHER M C, DERVINIS C, et al. Priming defense genes and metabolites in hybrid poplar by the green leaf volatile *cis*-3-hexenyl acetate[J]. *New Phytologist*, 2008, 180(3): 722. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2008.02599.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02599.x).
- [20] AARTSMA Y, BIANCHI F J J A, WERF W V D, et al. Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales[J]. *New Phytologist*, 2017, 216(4): 1054. DOI: [10.1111/nph.14475](https://doi.org/10.1111/nph.14475).
- [21] TURLINGS T C J, ERB M. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential[J]. *Annual Review of Entomology*, 2018, 63: 433. DOI: [10.1146/annurev-ento-020117-043507](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043507).
- [22] FINCHEIRA P, QUIROZ A. Microbial volatiles as plant growth inducers[J]. *Microbiological Research*, 2018, 208: 63. DOI: [10.1016/j.micres.2018.01.002](https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.002).
- [23] MIRABELLA R, RAUWERDA H, STRUYS E A. The *Arabidopsis her1* mutant implicates GABA in *E*-2-hexenal responsiveness[J]. *The Plant Journal*, 2008, 53(2): 197. DOI: [10.1111/j.1365-313X.2007.03323.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03323.x).
- [24] MIRABELLA R, RAUWERDA H, ALLMANN S, et al. 2015. *WRKY40* and *WRKY6* act downstream of the green leaf volatile *E*-2-hexenal in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2015, 83(6): 1082. DOI: [10.1111/tpj.12953](https://doi.org/10.1111/tpj.12953).
- [25] RIEDLMEIER M, GHIRARDO A, WENIG M, et al. Monoterpenes support systemic acquired resistance within and between plants[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1440. DOI: [10.1105/tpc.16.00898](https://doi.org/10.1105/tpc.16.00898).
- [26] YI H S, HEIL M, ADAME-ALVAREZ R M. Airborne induction and priming of plant defenses against a bacterial pathogen[J]. *Plant Physiology*, 2009, 151(4): 2152. DOI: [10.1104/pp.109.144782](https://doi.org/10.1104/pp.109.144782).

责任编辑: 何承刚