



粗茎秦艽种子生物学研究

吴靳荣, 赵志礼*, 孟千万

(上海中医药大学 生药学教研室, 上海 201203)

[摘要] 目的:了解濒危药用植物粗茎秦艽种子的生物学特性。方法:5批不同产地粗茎秦艽种子的形态学观察、发芽试验和生活力的TTC法测定。结果:5批种子外部形态基本相同;贮存8个月后,各样品生活力相近,但野生种子的发芽率最高;同时,该野生种子与2008XR02号样品的发芽势较其他3个样品为高;千粒重与发芽率之间的相关性不明显。结论:初步推断,野生种子与2008XR02号种子的品质较优;本工作可为该物种的就地保护及优良种质的选育提供基础资料。

[关键词] 粗茎秦艽;种子生物学;千粒重;发芽率;生活力

常用中药秦艽为多来源品种^[1],临床应用广泛,药材市场需求量大。但由于种种原因,粗茎秦艽 *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. 及其他3种秦艽基原植物均被列入《国家重点保护野生药材物种名录》之中^[2]。

为了缓解药材供求矛盾,保护珍贵的野生植物资源,进行就地栽培学研究十分必要,而种子生物学特征的掌握是栽培学研究的重要基础工作。为此,作者在前期工作的基础上^[3-4],对粗茎秦艽种子生

物学进行了初步研究。

1 材料

SPX-80B型生化培养箱(上海跃进医疗器械厂);XL30 ESEM环境扫描电镜(PHILIPS公司);红四氮唑(TTC;上海如吉生物科技发展有限公司);显微测微尺及解剖镜等。

粗茎秦艽种子均由赵志礼教授采集并鉴定,凭证标本保存于上海中医药大学中药学院药用植物标本室(表1)。

表1 粗茎秦艽种子样品来源

凭证标本	地点	采集日期	生境	备注
赵志礼 2008LD04	云南省玉龙纳西族自治县鲁甸乡	2008-10-31	栽培	当年种子
赵志礼 2008XR01	云南省德钦县霞若乡	2008-11-02	山坡,半野生	当年种子,植株矮小型
赵志礼 2008XR02	云南省德钦县霞若乡	2008-11-02	山坡,半野生	当年种子,植株高大型
赵志礼 2008LJ01	云南省丽江市古城区金安乡	2008-11-04	栽培	当年种子
赵志礼 2008LJ04	云南省丽江玉龙雪山山东侧	2008-11-05	山坡,野生	当年种子

2 方法

2.1 种子形态学观察与千粒重测定

直接观察粗茎秦艽种子的外观形态。在解剖镜下用显微测微尺测量种子的长度和宽度,每批样品各测量100粒种子。在电子扫描显微镜下观察种皮表面纹饰。2008LD04号样品水中温浸4h后,将种子的胚剖出,置显微镜下观察。随机抽取饱满种子3000粒,每1000粒为1组,测3次千粒重,取平均值。

2.2 最适宜发芽温度的考察

样品(2008LD04)在水中温浸24h后,取100粒放于培养皿中,平行3份,分别置培养箱中进行暗培养,预先设定3个温度条件:17,21,25℃。发芽床采用多层湿润滤纸,试验过程中保持滤纸湿润;以种皮开裂为种子发芽标志进行计数,并记录种子初始发芽时间。初步结果显示,21℃左右较为适宜(图1)。再设定19,21,23℃3个条件,可见21℃下种子发芽率明显高于其他温度下的发芽率。由此得出21℃为粗茎秦艽种子的最适宜发芽温度(图2)。

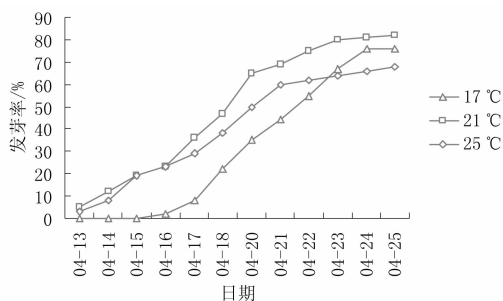
2.3 种子生活力测定方法的建立

确定染色温度、TTC浓度及染色持续时间3个因素,并各设定3水

[稿件编号] 20100812001

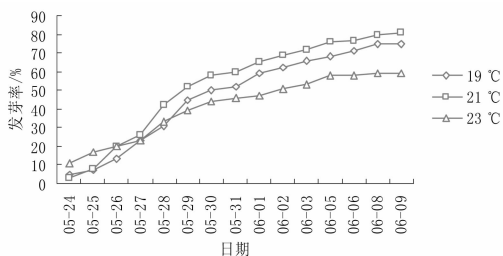
[基金项目] 上海市教育委员会科研创新项目(09ZZ131)

[通信作者] *赵志礼,教授, Tel: (021) 51322202, E-mail: zhilzhao@sohu.com



4月2日浸泡种子,首次发芽时间为第11天。

图1 17~25 °C粗茎秦艽种子的发芽率曲线



5月13日浸泡种子,首次发芽时间为第11天。

图2 19~23 °C粗茎秦艽种子的发芽率曲线

平,应用正交试验法对各因素最优水平进行筛选,并选用 $L_9(3^3)$ 正交表(表2)。

表2 因素与水平

组数	染色温度/°C	TTC 质量分数/%	染色时间/h
1	25	0.25	2
2	25	0.5	4
3	25	1.0	6
4	30	0.25	4
5	30	0.5	6
6	30	1.0	2
7	35	0.25	6
8	35	0.5	2
9	35	1.0	4

具体操作为:样品(2008LD04)水中温浸24 h后,分别取30粒种子从中部横切,放入避光的称量瓶中,按照每组试验的具体条件进行染色,试验结束后观察种子的染色结果;共进行9组试验(表3)。直观分析后可得出各因素最优水平为:染色温度35 °C, TTC 0.25%, 染色时间6 h。

3 结果与分析

3.1 种子形态学特征 外形特征基本一致:矩圆形,表面红褐色,有光泽,种皮表面具细网状纹饰;种

表3 粗茎秦艽种子生活力正交试验

组数	染色数	半粒种子总数	生活力
1	5	60	0.08
2	12	60	0.20
3	3	60	0.05
4	46	60	0.77
5	16	60	0.27
6	9	60	0.15
7	49	60	0.82
8	24	60	0.40
9	12	60	0.20

脐位于种子基部尖端,下陷成圆形(图3)。胚较小,心形^[5],子叶发育不完全(图4)。

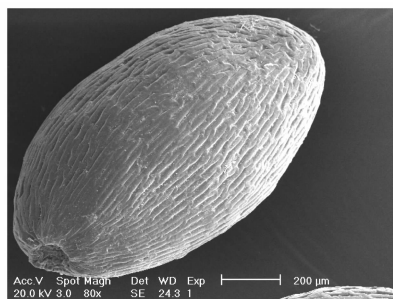


图3 粗茎秦艽种子表面纹饰

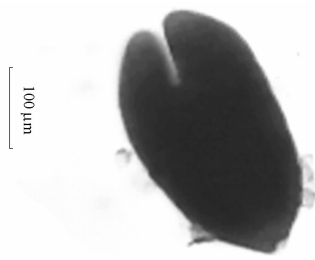


图4 粗茎秦艽种子胚的形态

2008XR01号和2008XR02号种子长与宽略小于其他批次的种子,同时千粒重也明显小于其他种子(表4)。

表4 种子大小及千粒重($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	种子长/mm	种子宽/mm	千粒重/g
LD04	1.32 ± 0.14	0.66 ± 0.06	0.37 ± 0.01
XR01	1.21 ± 0.09	0.59 ± 0.04	0.23 ± 0.01
XR02	1.10 ± 0.04	0.58 ± 0.04	0.25 ± 0.01
LJ01	1.33 ± 0.05	0.67 ± 0.05	0.37 ± 0.01
LJ04	1.47 ± 0.05	0.71 ± 0.05	0.34 ± 0.02

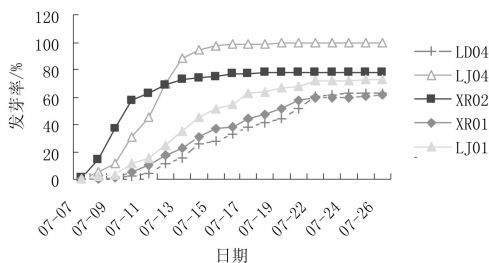


3.2 不同来源种子的生活力和发芽率比较 2008年10—11月收集到的种子自然干燥后,装入纸袋,室温下放置8个月,于2009年7月测定所有样品的发芽率;同时测定种子生活力。结果显示在此时期,各样品生活力为97%~100%,均具很强的生命力(表5)。

表5 7月份不同来源种子生活力测定

样品	染色体数	总数	生活力
LD04	58	60	0.97
XR01	58	60	0.97
XR02	60	60	1
LJ01	60	60	1
LJ04	58	60	0.97

发芽率结果显示,野生粗茎秦艽种子(2008LJ04)的发芽率明显高于其他半野生及栽培样品的发芽率。同时,可看出该野生种子与2008XR02号样品的发芽势明显高于其他3个样品(图5)。



首次发芽时间为第8天。

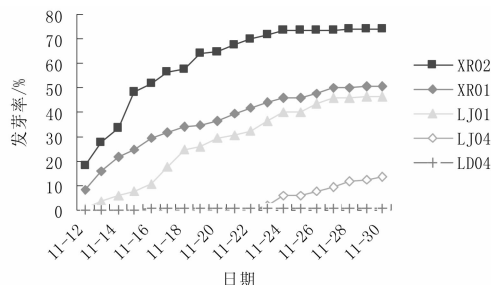
图5 7月份不同来源种子的发芽率曲线

为了考察样品发芽率和生活力的变化情况,当年10月30日至11月(种子贮存1年后)再次对相关指标进行测定。结果显示,除了2008LD04号样品生活力急剧下降外,其他4个样品变化不大,在96%~100%(表6)。

表6 10月份不同来源种子生活力测定

样品	染色体数	总数	生活力
LD04	2	50	0.04
XR01	48	50	0.96
XR02	50	50	1
LJ01	50	50	1
LJ04	48	50	0.96

发芽率试验结果显示,除了2008XR02号样品变化不明显外,其他各样品的发芽率明显下降,其中2008LJ04号下降幅度最大,2008LD04号几乎为0(图6)。



首次发芽时间为第13天。

图6 11月份不同来源种子的发芽率曲线

3.3 种子发芽率变化趋势 2009年4,5,7,11月连续4次对2008LD04号样品的发芽率进行测定,以考察粗茎秦艽种子随时间推移其发芽率的变化情况。结果显示,首次发芽时间为第10~12天;4月份发芽率最高,之后一直呈下降趋势,至11月份近于0(图7)。

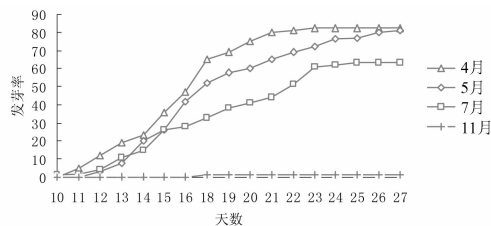


图7 不同时期粗茎秦艽种子的发芽率曲线

4 讨论

5批不同产地粗茎秦艽种子放置8个月后,发芽率试验结果显示,野生种子(2008LJ04)明显高于其他半野生及栽培种子。同时,可看出该野生种子与2008XR02号样品(半野生,植株高大型)两者的发芽势明显高于其他3个样品。贮存1年后的测定结果显示,2008XR02号样品的发芽率与生活力变化不明显。综合以上分析,初步推断,2008LJ04号与2008XR02号种子的品质较优。

一般依据种子大小将其分为4级,粗茎秦艽种子体积很小,据测定,属于最小级——“细粒种子”^[6]。由于种子长度不超过1.5mm,因此在生活



力测定中,观察染色情况有一定难度。将继续这方面的探讨,以期建立更为适宜秦艽类种子生活力测定的方法。

半野生 2008XR01 号和 2008XR02 号样品的千粒重较其他样品为小,但两者的发芽率并不低。提示发芽率与种子大小之间可能相关性不明显。

实验过程中,种子样品的贮存条件基本没有人为控制,即装入纸袋,室温下放置。其实验结果亦比较客观地反映了粗茎秦艽种子 1 年期间生活力、发芽率变化的实际情况。显而易见,种子随时间的推移发生劣变是一个不可逆过程,尤其是 2008LD04 号和 2008LJ04 号样品,其发芽率下降迅速;且 2008LD04 号生活力几近丧失。在后续工作中,将扩大种子取样范围,比较各样品之间的品质优劣;同时

考察不同贮存条件对种子生活力与发芽率的影响,以确定最优贮存条件,为该物种的保护及优良种质的选育提供基础资料。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:253.
- [2] 周秀佳,徐宏发,顺庆生. 中药资源学[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:368.
- [3] 吴斯荣,赵志礼,王妍妍,等. 云南丽江产粗茎秦艽栽培品种的品质评价[J]. 中成药,2010,32(2): 250.
- [4] 秦鲜艳,赵志礼,孟千万,等. 粗茎秦艽 ISSR-PCR 反应体系的优化[J]. 亚太传统医药,2009,5(10): 25.
- [5] 李惠娟,王耀芝. 秦艽的胚胎学研究[J]. 西北植物学报,1994,14(4): 243.
- [6] 陈火英. 现代种子种苗学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999: 10.

Study on seed biological characteristics of *Gentiana crassicaulis*

WU Jinrong, ZHAO Zhili*, MENG Qianwan

(Department of Pharmacognosy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To study seed biological characteristics of *Gentiana crassicaulis*. **Method:** The samples were collected from five localities, and the morphological observation, germination test and viability TTC test were carried out. **Result:** The seed morphological characters of all samples were similar to each other. The viability of all samples was similar to each other, but the germination rate of wild seed was the highest in all samples after stored for 8 months. Also, the seed energy of wild seed and sample 2008XR02 was higher than other three samples. There was no obvious correlation between thousand seed weight and germination rate. **Conclusion:** The quality of wild seed and sample 2008XR02 was superior than that of the other three samples. The results can be used for basic data of in situ conservation and germplasm breeding of *G. crassicaulis*.

[Key words] *Gentiana crassicaulis*; seed biology; thousand seed weight; germination test; seed viability

doi:10.4268/cjcm20110507

[责任编辑 吕冬梅]