

## 麻花苳、管花秦苳和黄管秦苳种子萌发特性比较

王 环<sup>1,2</sup>, 司庆文<sup>1</sup>, 沈建伟<sup>2</sup>, 雷天翔<sup>1</sup>, 李晓娟<sup>4</sup>, 王久利<sup>4</sup>, 陈世龙<sup>1,3</sup>, 周党卫<sup>1,3\*</sup>

(1. 中国科学院 高原生物适应与进化重点实验室, 青海 西宁 810008; 2. 中国科学院 西北高原生物研究所分析测试中心, 青海 西宁 810008;  
3. 青海省植物分子育种重点实验室, 青海 西宁 810008; 4. 青海民族大学 化学与生物工程学院, 青海 西宁 810007)

**摘 要:**秦苳是中国重要的传统中藏药材,为了解秦苳的休眠机制提高其萌发率,扩大引种栽培资源,对青藏高原野生秦苳组中的麻花苳、管花秦苳和黄管秦苳的种子萌发特性进行了比较。结果表明,温度显著影响3种秦苳的萌发,其萌发曲线均呈现出钟状,萌发最适温度为25℃,在最适温度时3种秦苳萌发率无明显差异,但均显著高于低温或高温处理。且15℃和30℃时,麻花苳的萌发率均显著高于管花秦苳和黄管秦苳,但管花秦苳和黄管秦苳萌发率无显著差异。赤霉素(GA)可以显著提高3种秦苳的萌发势和萌发率,且最佳处理浓度为200 μmol·L<sup>-1</sup>,在100 μmol·L<sup>-1</sup> GA处理下,麻花苳萌发率显著高于管花秦苳和黄管秦苳,而在500 μmol·L<sup>-1</sup>时,管花秦苳萌发率显著高于黄管秦苳。相关分析显示,赤霉素浓度与3种秦苳萌发率之间存在显著的相关性,其相关曲线为二次抛物线型。硝酸钾在100 μmol·L<sup>-1</sup>和200 μmol·L<sup>-1</sup>浓度下分别对麻花苳和黄管秦苳萌发率具有微弱促进作用,对管花秦苳种子萌发几乎无影响,但可显著提高种子的萌发势;浓度>400 μmol·L<sup>-1</sup>时,硝酸钾对管花秦苳和黄管秦苳种子均有显著的抑制作用。3种秦苳植物萌发特性的存在差异,可能与其遗传差异有关。在生产实际中进行区别处理,引种栽培过程中适宜的温度和GA处理对于栽培可能具有重要意义。

**关键词:**麻花苳;管花秦苳;黄管秦苳;发芽特征;温度;赤霉素;硝酸钾

中图分类号:R282.1

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2019)02-0122-07

### Comparason of the Germination Characteristics of the Seeds of Three *Gentiana* Species

WANG Huan<sup>1,2</sup>, SI Qing-wen<sup>1</sup>, SHEN Jian-wei<sup>2</sup>, LEI Tian-xiang<sup>1</sup>, LI Xiao-juan<sup>4</sup>, WANG Jiu-li<sup>4</sup>,  
CHEN Shi-long<sup>1,3</sup>, ZHOU Dang-wei<sup>1,3\*</sup>

(1. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota (AEPB), Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences (CAS), Xining 810008, Qinghai, China; 2. Analysis and Test Center, Northwest Institute of Plateau Biology, CAS, Xining 810008, Qinghai, China; 3. Qinghai Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, Xining 810008, Qinghai, China; 4. School of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Nationalities University, Xining 810007, Qinghai, China)

**Abstract:** “Qinjiao” (*Gentiana* spp.) is the well-known Chinese and Tibetan traditional crude drug for curing many diseases. In order to understand the dormancy-breaking mechanism, to enhance the germination rate, and to expand cultivation and introduction resources, this paper studied the germination characteristics of the seeds of three *Gentiana* species: *G. straminea*, *G. siphonantha*, and *G. officinalis*. The results showed that temperature had significant effect on the germination characteristics, the curves of germination rate all presented in an inverted trumpet-shape with temperature, and 25℃ was the most optimum temperature for all three species. At 15℃ and 30℃ treatments, the germination rates were significantly lower than the opti-

收稿日期:2018-06-16 修回日期:2018-10-26

基金项目:国家自然科学基金(30572329);中科院知识创新项目(KSCX2-SW-106);青海省科技厅基础科研项目(2017-ZJ-702);青海省创新平台建设专项项目(2017-ZJ-Y14)。

作者简介:王 环,女,在读博士,研究方向:高山植物资源药理学。E-mail:wanghuan@nwipb.cas.cn

\* 通信作者:周党卫,男,博士,副研究员,研究方向:高山植物生理与分子生物学。E-mail:dangweizhou@sina.com

mum one. At 15°C and 30°C, the germination percentage of *G. straminea* was significantly higher than the others, no difference was found between *G. siphonantha* and *G. officinalis*. Moreover, GA could significantly increase the germination rate of the three species with the most optimum concentration of 200  $\mu\text{M}$ . At 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the germination rate of *G. straminea* seeds was significantly higher than those of *G. siphonantha* and *G. officinalis*, while *G. siphonantha* had significant higher germination rate than *G. officinalis* under 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA treatment. Correlation analysis indicated that significant correlations existed between the germination rate and GA concentration with a quadratic parabola. In addition, low concentration of  $\text{KNO}_3$  (100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  or 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) presented weak promotion effects on seeds germination of *G. straminea* and *G. officinalis* while it had little effect on that of *G. siphonantha*. As the  $\text{KNO}_3$  concentration increased above 400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the germination rates of all the three seeds were inhibited to some degrees. However,  $\text{KNO}_3$  could enhance the germination potentiality of all species. The results showed that there existed different characteristics on germination among three species, which may relate to the genetic difference. In future taming culture practice, the temperature and GA concentration would be the two important factors and the germination differences of the three wild species should be considered.

**Key words:** *Gentiana straminea*; *Gentiana siphonantha*; *Gentiana officinalis*; germination; temperature; GA;  $\text{KNO}_3$

秦苳为龙胆科龙胆属植物, 主要分布在青藏高原及周边地区, 以根入药, 是中国重要的中藏药材<sup>[1]</sup>。其主要含龙胆苦甙, 在抗炎、镇痛、调节免疫等方面具有重要作用<sup>[1-3]</sup>。近年来, 以秦苳为原料的中藏药新药取得较大发展, 秦苳需求量大<sup>[4]</sup>。目前, 秦苳组 (sect. *Cruciata* Gaudin) 中, 大叶秦苳 (*Gentiana macrophylla*) 和麻花苳 (*Gentiana straminea*) 已经在陕西、甘肃、青海等省份开展了人工种植, 并取得一定成效<sup>[5-7]</sup>。但在生产实际中, 由于秦苳种子小, 寿命短, 产量低, 且存在后熟现象, 在生产实践播种过程中存在发芽率低、发芽不整齐等情况, 制约着秦苳的规范化种植<sup>[8]</sup>。因此, 研究秦苳种子的生物学特性, 对促进田间的引种栽培具有重要意义。

目前, 中国药典收集的秦苳药材种类包括秦苳 (*Gentiana macrophylla*)、麻花苳 (*Gentiana straminea*)、粗茎秦苳 (*Gentiana crassicaulis*) 或者小秦苳 (*Gentiana dahurica*)<sup>[2]</sup>, 其均属于龙胆属秦苳组植物, 系统学分析发现, 秦苳组的不同种, 亲缘关系很近<sup>[9]</sup>, 并且具有相同的指征性成分均可作为秦苳的潜在替代品<sup>[10]</sup>。分子证据表明, 一些物种之间可以进行杂交<sup>[11]</sup>。这也为优质秦苳选育提供了有利条件。尽管目前, 对秦苳组的大叶秦苳<sup>[4, 12]</sup>、粗茎秦苳<sup>[13]</sup>的种子生物学特性进行了研究, 但对秦苳组中其它物种的萌发特性依然缺乏了解。因此, 本研究对青海地区麻花苳 (*G. straminea*)、黄管秦苳 (*G. officinalis*) 和管花秦苳 (*G. siphonantha*) 3 种植物的种子萌发特性进行了初步研究, 为人工引种和规范化种植该类植物, 及进行秦苳杂交育种等研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

秦苳种子均于 2016 年植物生长季末期采集, 次年初进行试验。其中麻花苳种子采集于青海省门源县风峡口中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站 (37°29′—37°45′N, 101°12′—101°33′E, Alt 3 200 m)。管花秦苳种子采集于青海省曲麻莱县 (34°06′N, 96°09′E, Alt 4 400 m), 黄管秦苳采集于青海省泽库县麦秀林场 (101°46′—102°04′E, 35°8′—35°21′N, Alt 2 920 m), 凭证标本均经过兰州大学刘健全研究员鉴定, 保存于西北高原生物研究所标本馆中。种子经过自然风干后备用。

### 1.2 方法

1.2.1 千粒重和含水量 种子千粒重: 从纯净后的种子中, 随机数 1 000 粒种子, 称重, 重复 3 次, 计算平均值。

种子含水量: 按照刘丽莎和姬可平的方法<sup>[12]</sup>, 将约 5 g 种子放入称量瓶中, 称重, 并在 110°C 中烘箱中干燥 6~8 h, 移入干燥器内冷却后, 称其重量。

1.2.2 温度处理 种子用水清洗干净后, 取 100 粒种子播于培养皿中, 分别在 15、20、25、30°C 和 35°C 恒温培养箱中进行暗培养。每个处理重复 3 次。发芽床采用多层滤纸进行, 培养过程中始终保持滤纸湿润。播种 3 d 后每天统计种子的萌发情况, 并记录发芽粒数, 以播种后第 7 天萌发粒数计算种子发芽势, 以播种后第 14 天萌发粒数计算萌发率。

1.2.3 赤霉素处理 在室温条件下, 3 种秦苳材料种子分别在 0、50、100、200、300、400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和

500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  赤霉素溶液中浸泡过夜,蒸馏水漂洗后,约 100 粒种子分别播于培养皿中湿润的滤纸上。每个处理重复 3 次,播种 3 d 后每天观察统计种子萌发情况,并记录发芽粒数。

1.2.4 硝酸钾处理 在室温条件下,3 种秦艽种子分别在 0、100、200、300、400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{KNO}_3$  溶液中浸泡过夜后,100 粒种子分别播于培养皿中进行暗培养,每个处理重复 3 次。播种 3 d 后每天统计种子萌发情况,并记录发芽粒数。

1.2.5 种子发芽指标 种子的萌发以培根突破种皮为标准,发芽率/% = 萌发的种子数  $n$ /供试种子数  $N \times 100$ ;发芽势/% = 规定时间内发芽的种子数  $n$ /供试种子数  $N \times 100$ ;萌发指数 (GI) =  $\sum (Gt/Dt)$ ,  $Gt$  为不同发芽时间的萌发数,  $Dt$  为相应的发芽时间。

1.2.6 统计分析 所有数据均以平均值  $\pm$  标准误表示,数据统计采用 SPSS14.0 软件进行,应用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行方差分析,平均数之间的差异采用 LSD 法进行显著性检验,采用 Excel 2010 软件进行回归分析和图表制作。

## 2 结果与分析

### 2.1 种子生物学特征

麻花苳、管花秦艽和黄管秦艽均为秦艽组植物,种子小,并且均为蒴果<sup>[14]</sup>。对风干种子的含水量测定,结果发现种子含水量均为 5% 左右。其千粒重如图 1 所示,黄管秦艽的千粒重为 0.211 6 g,显著高于麻花苳和管花秦艽 ( $P < 0.05$ ),其千粒重是后两者的 1.12 倍和 1.77 倍,管花秦艽的种子千粒重最小。

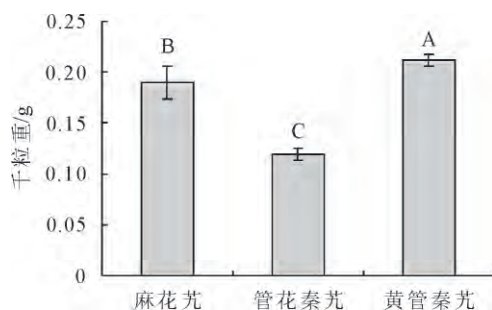


图 1 3 种秦艽千粒重比较

Fig. 1 Comparison on thousand grain weight among three *Gentiana* species

### 2.2 不同温度处理下 3 种秦艽种子的萌发率比较

温度是种子萌发的重要限制因子,为检测 3 种秦艽种子萌发的状况,分别 15、20、25℃ 和 30℃ 的控温培养下,对麻花苳、黄管秦艽和管花秦艽的种子进行了检测。如表 1 所示,温度对 3 种秦艽种子的萌

发具有显著的影响。在 15℃ 时,管花秦艽的萌发率只有 8%,而黄管秦艽的萌发率为 16%,均显著低于麻花苳种子萌发率 29%。其萌发指数与萌发率趋势一致,呈现为麻花苳 > 黄管秦艽 > 管花秦艽。且管花秦艽萌发指数显著低于另外 2 种秦艽。在温度升高到 20℃ 时,3 种秦艽的萌发率均较 15℃ 时显著提高 ( $P < 0.05$ ),萌发率分别增加 48%、231% 和 175%。3 种秦艽中,黄管秦艽的萌发率最高,其次是麻花苳,管花秦艽的萌发率和萌发指数均显著低于黄管秦艽和麻花苳,但麻花苳的萌发率和萌发指数尽管均低于黄管秦艽,但两者差异并不显著。在 25℃ 时,3 种秦艽的萌发率均达到最高,分别为 71%、70% 和 64%。麻花苳的萌发率最高,但 3 种植物的萌发率和萌发指数均无显著差异。30℃ 时,3 种秦艽的萌发率和萌发指数均显著低于 25℃。且除 25℃ 时,种子发芽势均为 0。

表 1 不同温度处理对 3 种秦艽种子萌发的影响

Table 1 Effects of temperature on the germination of the seeds of three *Gentiana* species

温度/℃	物种	发芽率/%	发芽势/%	萌发指数
15	麻花苳	0.29 ± 0.06a	0	2.25 ± 0.61a
	黄管秦艽	0.16 ± 0.03b	0	1.76 ± 0.44a
	管花秦艽	0.08 ± 0.05b	0	0.65 ± 0.22b
20	麻花苳	0.43 ± 0.06a	0	10.74 ± 2.04a
	黄管秦艽	0.53 ± 0.06a	0	11.22 ± 0.58a
	管花秦艽	0.22 ± 0.11b	0	4.98 ± 0.65b
25	麻花苳	0.71 ± 0.09	0.23 ± 0.06a	32.43 ± 4.44
	黄管秦艽	0.70 ± 0.11	0.12 ± 0.05b	27.98 ± 4.07
	管花秦艽	0.64 ± 0.10	0.12 ± 0.03b	25.85 ± 1.03
30	麻花苳	0.15 ± 0.04a	0	0.84 ± 0.28a
	黄管秦艽	0.09 ± 0.03b	0	0.56 ± 0.17ab
	管花秦艽	0.09 ± 0.01b	0	0.36 ± 0.10b

注:不同小写字母表示 ( $P < 0.05$ )。

对不同温度处理下,种子萌发率与温度的关系进一步分析显示,3 种秦艽种子的萌发均呈现出“钟型”的变化趋势(图 2),在 15~25℃,萌发率随温度呈现出增加趋势,但在 25~30℃,萌发率均呈现降低趋势。表明 3 种秦艽均为中温萌发型,对于 < 15℃ 和 > 30℃ 的萌发温度非常敏感。

### 2.3 赤霉素处理条件下,3 种秦艽种子的萌发特征比较

如图 2、表 2 所示,相比对照,在 0~500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的赤霉素处理,均可以提高 3 种秦艽的萌发率。但 3 种秦艽的萌发处理浓度存在差异,麻花苳和管花秦艽的萌发率在 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理时达到最大,分别为 92% 和 91%,较对照提高 47% 和 47%。而黄管秦艽的则在 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理下达到最大萌发率 88%,较对照提高 87%。且麻花苳

的发芽势和萌发指数均在 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理时达到最大, 黄管秦苳的萌发指数也在 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理达到最大, 但其发芽势 0.40 略低于 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理下的最大发芽势 0.41。管花秦苳的萌发指数与萌发率, 尽管在 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理下达到最大。但其与 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理下的萌发势和萌发指数并无显著差异。因此, 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理处理为 3 种秦苳萌发的最佳浓度。

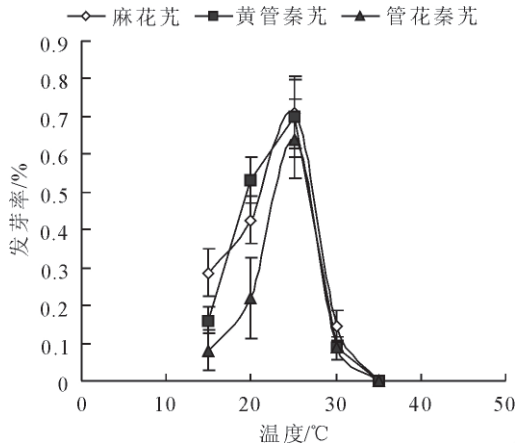


图 2 温度对 3 种秦苳萌发率的影响

Fig. 2 Effects of temperature on the germination rate of the seeds of three *Gentiana* species

3 种秦苳在赤霉素处理下, 其萌发率存在明显差异 (表 2), 在 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理条件下, 麻

花苳的萌发率显著高于黄管秦苳 ( $P < 0.05$ ), 但与管花秦苳萌发率之间无明显差异, 同样管花秦苳萌发率高于黄管秦苳 12%, 但其萌发率无显著差异。而在 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GA 处理条件下, 黄管秦苳的萌发率则显著高于管花秦苳 ( $P < 0.05$ ), 但麻花苳的萌发率与黄管秦苳和管花秦苳相比则无明显差异。在其他 GA 处理条件下, 尽管 3 种秦苳的萌发率有所不同, 但三者之间无显著的区别。

为进一步了解赤霉素对秦苳萌发率的影响, 对秦苳萌发率与赤霉素浓度之间的相关性进行相关分析。如图 3 所示, 3 种秦苳的萌发率与赤霉素浓度之间具有显著相关性, 且二元拟合后的趋势相似, 均呈现为低浓度 GA (0~300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 促进种子萌发, 但在 GA 浓度  $> 400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  存在一定的抑制性。3 种秦苳萌发率与 GA 浓度的相关系数分别为 0.623 1、0.917 1 和 0.831 1。

2.4  $\text{KNO}_3$  处理对 3 种秦苳种子萌发的影响

有研究表明, 硝酸钾处理可以促进种子的萌发<sup>[8,15]</sup>。为了解其对于 3 种秦苳种子萌发的影响。对不同浓度下硝酸钾对种子萌发的影响进行分析, 如表 3 所示。高浓度的硝酸钾 ( $> 300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对于秦苳种子的萌发具有抑制作用。其中以管花秦苳和黄管秦苳的抑制效果最为明显, 在 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  较对照降低 9.2% 和 23.3%, 而对麻花苳的抑

表 2 不同浓度 GA 处理对 3 种秦苳种子萌发的影响

Table 2 Effects of GA treatment on the germination rate of the seeds of three *Gentiana* species

GA 浓度 / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	物种	发芽率 / %	发芽势 / %	萌发指数
0	麻花苳	0.62 ± 0.03	0.19 ± 0.01	29.76 ± 0.52
	黄管秦苳	0.52 ± 0.12	0.13 ± 0.05	23.37 ± 3.97
	管花秦苳	0.62 ± 0.02	0.11 ± 0.02	25.02 ± 2.36
50	麻花苳	0.84 ± 0.03	0.48 ± 0.03	47.44 ± 5.25a
	黄管秦苳	0.69 ± 0.12	0.24 ± 0.03	35.49 ± 8.68
	管花秦苳	0.81 ± 0.02	0.25 ± 0.06	39.03 ± 3.85
100	麻花苳	0.91 ± 0.02a	0.52 ± 0.09	56.03 ± 2.80
	黄管秦苳	0.75 ± 0.09ab	0.31 ± 0.05	41.83 ± 4.34
	管花秦苳	0.84 ± 0.05a	0.28 ± 0.08	37.41 ± 5.61
200	麻花苳	0.92 ± 0.02	0.57 ± 0.04a	57.03 ± 1.56
	黄管秦苳	0.85 ± 0.10	0.40 ± 0.09b	50.41 ± 7.19
	管花秦苳	0.91 ± 0.03	0.35 ± 0.05b	46.95 ± 2.35
300	麻花苳	0.86 ± 0.02	0.49 ± 0.10	52.72 ± 1.84a
	黄管秦苳	0.88 ± 0.03	0.41 ± 0.06	49.99 ± 3.00
	管花秦苳	0.87 ± 0.05	0.57 ± 0.10	51.22 ± 5.54
400	麻花苳	0.88 ± 0.06	0.47 ± 0.04	53.32 ± 1.62a
	黄管秦苳	0.86 ± 0.03	0.39 ± 0.09	47.93 ± 6.36ab
	管花秦苳	0.85 ± 0.02	0.36 ± 0.05	45.25 ± 3.65b
500	麻花苳	0.84 ± 0.04ab	0.46 ± 0.06	52.85 ± 3.25a
	黄管秦苳	0.86 ± 0.03a	0.33 ± 0.04	46.71 ± 3.50ab
	管花秦苳	0.77 ± 0.06b	0.34 ± 0.02	43.02 ± 4.57b

注: 不同小写字母表示 ( $P < 0.05$ )。

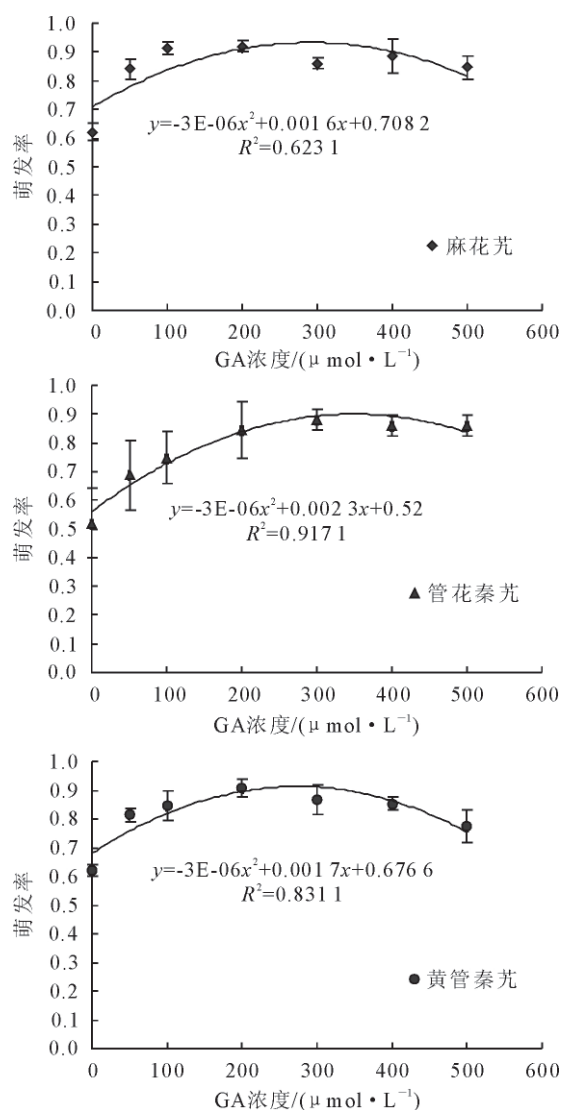


图3 不同赤霉素浓度对3种秦苳萌发率的影响

Fig. 3 Effects of GA treatment on the germination rate of the seeds of three *Gentiana* species

制效果不明显。低浓度条件下,硝酸钾对3种秦苳的萌发具有微弱的促进作用。其中在  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  条件下,对麻花苳的促进效果最为明显,较对照提高13%。在  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,对管花秦苳的萌发效果最好,较对照增加16%。但硝酸钾对于黄管秦苳的萌发促进并不明显。在  $100 \sim 200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理条件下,其萌发率与对照接近,但  $\text{KNO}_3$  浓度增加时,其萌发率明显降低 ( $P < 0.05$ )。统计分析表明,在相同浓度条件下,3种秦苳的萌发率之间也存在差异(表3)。在  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,麻花苳萌发率与黄管秦苳存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。但麻花苳与管花秦苳和黄管秦苳与管花秦苳之间并无显著差异。而在  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,麻花苳和管花秦苳的萌发率显著高于黄管秦苳 ( $P < 0.05$ )。

发芽势结果显示,硝酸钾处理能够显著提高3

种秦苳的发芽势。在  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理条件下,麻花苳的发芽势较对照提高2倍,黄管秦苳较对照提高2.07倍,管花秦苳较对照提高2.89倍。同样,其他浓度下,3种秦苳的发芽势也高于对照。但发芽指数的统计分析显示,在高浓度 ( $> 400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),麻花苳的发芽指数与对照差异较小,而黄管秦苳和管花秦苳萌发指数则显著低于对照 ( $P < 0.05$ )。

### 3 结论与讨论

温度是影响植物种子萌发、生长发育和地理分布的重要环境因素<sup>[17-19]</sup>。生长于青藏高原地区的植物,无论在萌发期还是生长发育阶段,常常遭受低温如霜冻、大雪或冰雹等胁迫因子的制约<sup>[20]</sup>,因此,适应低温环境是高原植物的必要特征。麻花苳、管花秦苳和黄管秦苳是分布在青藏高原的龙胆属秦苳组植物,并在高原作为秦苳的重要资源或潜在替代源<sup>[11]</sup>,具有很强的低温适应特性,但目前尚缺乏对其萌发特性的研究。刘丽莎<sup>[12]</sup>等(2002)认为大叶秦苳的最适萌发温度为  $20^\circ\text{C}$ ,而西藏秦苳的最适萌发温度为  $23^\circ\text{C}$ <sup>[13]</sup>,这与本研究结果基本一致,这可能与物种的遗传特性有关。但最适萌发温度均为中温的特性却具有一致性,因此,秦苳组植物的最适宜萌发温度可能为  $20 \sim 25^\circ\text{C}$ 。秦苳组植物多数分布在青藏高原地区,该地区海拔高、气温低,确定合适的温度是保证引种出苗的关键。尽管本研究使用的滤纸法,也就是空气温度而非土壤温度,但气温和土壤温度之间存在显著相关性<sup>[21-22]</sup>。在生产实践中可以根据各地的实际进行计算。李英年<sup>[23]</sup>等(2005)对海北站土壤温度研究发现在植物返青初期的5—6月,土壤温度基本在  $20 \sim 30^\circ\text{C}$ ,而且此时土壤水分也比较适宜,因此,此时非常适合秦苳的种植。但在低海拔地区,该温度可能早于5月,引种栽培时应注意。低温仅仅延迟种子萌发但并不影响发芽率<sup>[17]</sup>,高原冬春温度低,而在生长季的5—9月水热同期。因此,3种秦苳的最适萌发温度和低温抑制也是对高原极端环境的一种适应策略。高温对种子抑制的萌发与物种有关,一般认为高温环境下,胚胎内酶的活性受到影响,从而终止了内部生化反应<sup>[19]</sup>。但也有研究表明高温可以促进萌发<sup>[18-19]</sup>。而本研究结果则显示,高温降低或阻止了种子的萌发,这可能与胚胎酶活受高温影响有关,且高温和低温对于管花秦苳和黄管秦苳的抑制更严重,这也从侧面说明麻花苳对高原气候的适应能力可能强于管花秦苳和黄管秦苳。因此,引种栽培管花秦苳和黄管秦苳时,对温度的要求可能更严格。

表 3 不同浓度 KNO<sub>3</sub> 处理对 3 种秦苳种子萌发的影响Table 3 Effects of KNO<sub>3</sub> on germination rate of the seeds of three *Gentiana* species

KNO <sub>3</sub> 浓度/( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	物种	发芽率/%	发芽势/%	萌发指数
0	麻花苳	M0.59±0.04	M0.19±0.01a	M26.65±3.95a
	M 黄管秦苳	M0.55±0.08	M0.13±0.04ab	M18.03±3.78b
	M 管花秦苳	M0.64±0.06	M0.09±0.04b	M21.69±2.01 ab
100	M 麻花苳	M0.68±0.05a	M0.52±0.09a	M29.89±3.31a
	M 黄管秦苳	M0.54±0.05b	M0.31±0.05b	M18.05±1.74b
	M 管花秦苳	M0.61±0.02ab	M0.28±0.08b	M16.90±0.65b
200	M 麻花苳	M0.53±0.09	M0.57±0.04a	M27.15±3.68a
	M 黄管秦苳	M0.58±0.09	M0.40±0.09b	M20.65±2.06ab
	M 管花秦苳	M0.63±0.04	M0.35±0.05b	M18.67±4.10b
300	M 麻花苳	M0.60±0.04a	M0.49±0.10	M28.95±3.58a
	M 黄管秦苳	M0.45±0.08b	M0.41±0.06	M12.54±0.86b
	M 管花秦苳	M0.53±0.04ab	M0.57±0.10	M16.86±4.84b
400	M 麻花苳	M0.57±0.04a	M0.47±0.04	M26.48±4.96a
	M 黄管秦苳	M0.45±0.08b	M0.39±0.09	M14.57±0.26b
	M 管花秦苳	M0.56±0.03a	M0.36±0.05	M17.90±1.88b
500	M 麻花苳	M0.56±0.03a	M0.46±0.06a	M27.94±1.98a
	M 黄管秦苳	M0.46±0.06b	M0.33±0.04b	M15.90±4.27b
	M 管花秦苳	M0.46±0.02b	M0.34±0.02b	M13.78±2.10b

注:不同小写字母表示( $P<0.05$ )。

赤霉素为植物的重要生长调节物质,对于打破种子休眠,促进萌发具有重要作用<sup>[15]</sup>。研究发现大叶秦苳和西藏秦苳种子萌发势和萌发率均随浓度的增加而显著增加<sup>[12-13]</sup>。但对于麻花苳、管花秦苳和黄管秦苳的研究却表明,其萌发特征呈现出二次曲线抛物线型特征(图 3),即高浓度 GA 对 3 种秦苳萌发有抑制作用。这与牛晓雪<sup>[8]</sup>等(2018)的结果一致。本研究还发现 GA 的促进作用在 3 种植物中也不尽相同,麻花苳的最适促进萌发浓度为 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,黄管秦苳的萌发率最高为 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,管花秦苳的最大萌发浓度为 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。赵敏<sup>[24]</sup>(2009)对东北龙胆(*Genetina scabra*)的研究发现,其种子中存在着抑制物质。种子的萌发与种子内在的激素平衡如 GA 与 ABA 比例可能有关<sup>[15,25]</sup>。3 种秦苳对于 GA 萌发效应的差异,可能与其内在抑制物质(如激素比例)的差异有关。而这种内在的抑制物质差异在 3 种秦苳中适应高原环境中的作用有待于进一步研究。

硝酸钾为抗氧化物质,其对种子的萌发具有促进效果<sup>[8,16,25]</sup>。本研究发现,不同浓度的硝酸钾处理对于 3 种秦苳种子萌发的影响存在明显差异。低浓度时,硝酸钾对麻花苳和黄管秦苳具有一定促进作用,但对于管花秦苳的作用不明显(表 3)。对狗尾草(*Setaria viridis*)研究发现,硝酸钾浓度可以打破休眠,显著提高种子的萌发率<sup>[25]</sup>。但在不同地区的种质的促进作用有差异,并认为这种差异可能与遗传多样性有关。因此,3 种秦苳种子对硝酸钾处

理的差异可能与这种遗传上的差异有关。由于硝酸根也是诱导萌发的信号分子<sup>[16]</sup>,因此其适应差异的机理有待于深入研究。

通过以上研究可知,温度、一定浓度的赤霉素和硝酸钾均对 3 种秦苳种子萌发有一定作用,其中温度和 GA 处理对 3 种秦苳的引种栽培可能更为重要,但 3 种秦苳的萌发最佳条件又不完全相同。在生产实践中,利用温度控制法容易操作,而 GA 处理对环境有一定污染,应尽量降低处理浓度(如选择最适浓度),而硝酸钾处理可以在出苗后,可能有促进幼苗生长的作用。因此,引种栽培可根据当地具体气候条件,采用几种处理的叠加可能对提高种子萌发率、缩短萌发时间和提高出苗整齐度更有效果。此外,秦苳种子萌发的遗传差异与内源激素的关系也值得深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [3] 穆桢强,于洋,高昊,等. 龙胆属秦苳组植物的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2009,34(16):2012-2016. MU Z Q, YU Y, GAO H, et al. Chemical and pharmacological research for sect aptera (*Gentiana*) [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(16): 2012-2016. (in Chinese)
- [4] 薛慧君,岳明,王亚洲. CO<sub>2</sub> 激光对大叶龙胆种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中草药,2004,35(3):324-327. XUE H J, YUE M, WANG Y Z. Effects of CO<sub>2</sub> laser irradiation on seed germination and seedling growth in *Gentiana mac-*

- rophylla* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2004, 35 (3): 324-327. (in Chinese)
- [5] 孙菁, 陈桂琛, 李玉林, 等. 栽培藏药材麻花苳中四种苦苷类成分含量的季节性变化[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(6): 1017-1019.  
SUN J, CHEN G C, LI Y L, *et al.* Determination and seasonal variation of four iridoid glycosides in *Gentiana straminea* cultivated [J]. Nat. Prod Res. Dev., 2006, 18(6): 1017-1019. (in Chinese)
- [6] 李勇慧, 曹晓燕, 李向民, 等. 大叶秦艽不同采收期中龙胆苦苷的分析[J]. 中草药, 2007, 38(6): 933-936.  
LI Y H, CAO X Y, LI X M, *et al.* Determination content of gentiopirinin *Gentiana macrophylla* at the various collecting periods [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2007, 38 (6): 933-936. (in Chinese)
- [7] 田丰, 李永平, 俞科贤, 等. 青藏高原麻花苳仿生栽培技术研究[J]. 作物杂志, 2012(2): 122-124.  
TIAN F, LI Y P, YU K X, *et al.* Study on bionic wild cultivation technique of *Gentiana straminea* in the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Crops, 2012(2): 122-124. (in Chinese)
- [8] 牛晓雪, 牟萌, 董学会. 不同引发因子对秦艽种子萌发、储藏及幼苗生长的影响[J]. 中药材, 2018, 41(8): 1795-1800.
- [9] ZHANG X, WANG Y, GE X, *et al.* Molecular phylogeny and biogeography of *Gentiana* sect. *Cruciata* (Gentianaceae) based on four chloroplast DNA datasets [J]. Taxon, 2009, 58(3): 1-9.
- [10] ZHOU D, HOU Q, SI Q, *et al.* Concentrations of the active constituents of the Tibetan folk medicine Qinjiao (*Gentiana* sect. *Cruciata*) within and between taxonomic species across the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. Chem Biodivers, 2010, 7 (8): 2088-2094.
- [11] 李晓娟, 王留阳, 杨慧玲, 等. 麻花苳和管花秦艽杂交的分子证据[J]. 云南植物学研究, 2007, 29(1): 91-97.  
LI X J, WANG L Y, YANG H L, *et al.* Confirmation of natural hybrids between *G. straminea* and *G. siphonantha* (Gentianaceae) based on molecular evidence [J]. Acta Botanica Yunnanica, 2007, 29(1): 91-97. (in Chinese)
- [12] 刘丽莎, 姬可平. 秦艽种子萌发特征的研究[J]. 中草药, 2002, 33(3): 269-271.
- [13] 吴新荣, 赵志礼, 孟千万. 粗茎秦艽种子生物学研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5): 552-555.  
WU J R, ZHAO Z L, MENG Q W. Study on biological characteristics of *Gentiana crassicaulis* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(5): 552-555. (in Chinese)
- [14] 刘尚武. 青海植物志: 第三卷 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 1996.
- [15] FINKELSTEIN R, REEVES W, ARIIZUMI T, *et al.* Molecular aspects of seed dormancy [J]. Annu Rev Plant Biol., 2008, 59: 387-415.
- [16] 李建勇, 龚继明. 植物硝酸根信号感受与传导途径[J]. 植物生理学通讯, 2011, 47(2): 111-118.  
LI J Y, GONG J M. Nitrate signal sensing and transduction in higher plants [J]. Plant Physiology Journal, 2011, 47(2): 111-118. (in Chinese)
- [17] 王婷婷, 楚光明, 江萍, 等. 不同处理对无叶假木贼种子萌发的影响[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(5): 125-129.  
WANG T T, CHU G M, JIANG P, *et al.* Influence of different treatments on the germination of *Anabasis aphylla* seeds [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(5): 125-129. (in Chinese)
- [18] 张鹏, 何梦雅, 张宇. 温度与浸种处理对沙棘种子萌发的影响[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(6): 130-133.  
ZHANG P, HE M Y, ZHANG Y. Effects of temperature and soaking treatments on seed germination of *Hippophae ham-noides* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015, 30(6): 130-133. (in Chinese)
- [19] 肖生旺, 方向文, 蒋志荣, 等. 温水浸种和 IAA 溶液浸种对当归种子萌发特性的影响[J]. 生态学杂志, 2017, 36(5): 1265-1270.  
XIAO S W, FANG X W, JIANG Z R, *et al.* Effects of warm water soaking and IAA soaking on germination of *Angelica sinensis* seeds [J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(5): 1265-1270. (in Chinese)
- [20] 卢存福, 简令成, 贲桂英. 高山植物短管兔耳草光合作用特性及其对冰冻胁迫的反应[J]. 植物学通报, 2000, 17(6): 559-564.  
LU C F, JIAN L C, BEN G Y. Photosynthesis in alpine plant *Lagotis breviflora* and its response to freezing stress [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2000, 17(6): 559-564. (in Chinese)
- [21] 冯学民, 蔡德利. 土壤温度与气温及纬度和海拔关系的研究[J]. 土壤学报, 2004, 41(3): 489-491.  
FENG X M, CAI D L. Soil temperature in relation to air temperature, altitude and latitude [J]. Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 489-491. (in Chinese)
- [22] 张金霞, 曹广民, 周党卫, 等. 草毡寒冻锥形土 CO<sub>2</sub> 释放特征[J]. 生态学报, 2001, 21(4): 544-549.  
ZHANG J X, CAO G M, ZHOU D W, *et al.* Carbon dioxide emission of Mat cryo-sod soil in the Haibei alpine meadow ecosystem [J]. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(4): 544-549. (in Chinese)
- [23] 李英年, 关定国, 赵亮, 等. 海北高寒草甸的季节冻土及在植被生产力形成过程中的作用[J]. 冰川冻土, 2005, 27(3): 311-319.  
LI Y N, GUAN D G, ZHAO L, *et al.* Seasonal frozen soil and its effect on vegetation production in Haibei alpine meadow [J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2005, 27(3): 311-319. (in Chinese)
- [24] 赵敏. 龙胆种子萌发与水溶性内源抑制物质[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 677-679.  
ZHAO M. Seed germination and water soluble endogenous inhibitory substance of *Gentiana scabra* [J]. Plant Physiology Journal, 2004, 40(6): 677-679. (in Chinese)
- [25] SEBASTIAN J, WONG M K, TANG E, *et al.* Methods to promote germination of dormant *Setaria viridis* seeds [J]. PLoS ONE, 2014, 9(4): e95109.