

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2017.60900

张亥贤, 陈学林, 达清璟, 马文兵. 粗茎秦艽种子粗提物与破眠方法研究[J]. 植物科学学报, 2017, 35(6): 900-907

Zhang HX, Chen XL, Da QJ, Ma WB. Study on *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. crude extracts and method for breaking dormancy [J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35(6): 900-907

粗茎秦艽种子粗提物与破眠方法研究

张亥贤, 陈学林*, 达清璟, 马文兵

(西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070)

摘要: 为了探究影响粗茎秦艽(*Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk.)种子休眠的因素, 破除休眠, 寻找其种子快速萌发的方法, 以干燥的粗茎秦艽种子为材料, 测定种子吸水率及粗提物的活性, 使用不同浓度的赤霉素(GA_3)、高锰酸钾($KMnO_4$)、聚乙二醇(PEG6000)和过氧化氢(H_2O_2)溶液进行浸种处理, 比较不同处理条件对粗茎秦艽种子萌发的影响。结果显示, 粗茎秦艽种皮对种子吸水没有明显阻碍作用; 不同浓度的种子粗提物对白菜、小麦的萌发和生长均表现出抑制作用; 不同浓度的粗提物对粗茎秦艽种子自身的萌发也表现出一定的抑制作用, 当粗提物浓度达到 0.1 g/mL 时, 抑制作用最显著($P < 0.05$); 高锰酸钾处理可提高粗茎秦艽种子的萌发率, 浓度为 1.5%时效果较显著($P < 0.05$), 而过氧化氢处理对粗茎秦艽种子的萌发效果不如前者, 此外, 用 500 mg/L 的赤霉素浸种和 300 mg/L 的聚乙二醇预处理也可显著打破粗茎秦艽种子休眠($P < 0.01$)。研究结果表明粗茎秦艽种子的内源抑制物是影响其休眠的因素之一; 种皮的机械阻碍也在一定程度上影响了种子萌发; 粗茎秦艽种子具有综合性休眠特性。高锰酸钾预处理、赤霉素浸种和聚乙二醇引发均可打破种子休眠、缩短种子出芽时间, 提高种子的发芽能力。

关键词: 粗茎秦艽; 休眠; 种子; 萌发

中图分类号: Q945.35

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2017)06-0900-08

Study on *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. crude extracts and method for breaking dormancy

Zhang Hai-Xian, Chen Xue-Lin*, Da Qing-Jing, Ma Wen-Bing

(Northwest Normal University, College of Life Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract: We investigated the dormancy mechanism of *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. seeds, as well as the applicable technology to break the seed dormancy and encourage rapid germination. The water absorption of seeds and activity of crude extracts were determined using dried *G. macrophylla* seeds, which were dry stored for after-ripening. We conducted the germination experiment by soaking seeds in priming solutions of gibberellic acid (GA_3), potassium permanganate ($KMnO_4$), polyethylene glycol (PEG6000) or hydrogen peroxide (H_2O_2), and then compared seed germination under the different treatments. Results showed that the *G. crassicaulis* seed capsules did not impede water absorption to any great extent. At the different concentrations, the crude extract showed inhibitory effects on the germination and growth of Chinese cabbage and wheat, and a certain inhibition effect on the germination of *G. crassicaulis*, which was the most significant ($P < 0.05$) when the concentration reached

收稿日期: 2017-04-25, 退修日期: 2017-05-15。

基金项目: 国家中医药管理局中医药公共卫生专项(财社[2011]76号); 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201207002)。

This work was supported by grants from the Central Government Public Health Special Fund for Traditional Chinese Medicine ([2011]76) and National Industry Research Special Fund for Traditional Chinese Medicine (201207002)。

作者简介: 张亥贤(1991-), 男, 硕士研究生, 主要从事系统和进化植物学研究(E-mail: 331767763@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence): 陈学林(1963-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事系统与进化植物学、种子生态学研究(E-mail: chenxuelin@163.com)。

0.1 g/mL. The KMnO_4 treatment significantly improved the germination rate of *G. crassicaulis* seeds and was the most significant ($P < 0.05$) at a concentration at 1.5%, whereas treatment with H_2O_2 had a much less significant effect. In addition, soaking with 500 mg/L of GA_3 and priming with 300 mg/L of PEG6000 disturbed the seed dormancy of *G. crassicaulis* ($P < 0.01$). Our research showed that the seed endogenous inhibition of *G. crassicaulis* is one of the factors affecting dormancy, and that the seed mechanical barrier affects seed germination to a certain extent. The *G. crassicaulis* seeds showed comprehensive dormancy characteristics. Soaking the seeds with KMnO_4 and GA_3 and priming with PEG6000 interrupted seed dormancy, shortened germination time, and promoted germination.

Key words: *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk.; Dormancy; Seed; Germination

粗茎秦艽 (*Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk.) 属于龙胆属植物, 多生长于高海拔地区, 其根内含龙胆苦苷成分, 具有抗炎、镇痛、调节免疫等作用, 是传统中药“秦艽”的四种基原植物之一^[1]。粗茎秦艽不同部位的龙胆苦苷含量均符合国家药典标准^[2,3], 说明其具有替代其他品种的秦艽作为药材供应的可能性。作为国家重点保护野生药用物种之一, 粗茎秦艽发芽速度慢, 种子采收后活力会逐渐降低, 其在较适合的温度环境下出芽率在 20% ~ 40%, 并且长达 10 d 才开始萌发, 存在出苗时间长等休眠问题^[2]。前人已对粗茎秦艽种子萌发开展了相关研究, 但对其种子休眠的原因和破眠方法还鲜有报道^[4]。本实验以粗茎秦艽种子为材料, 通过研究破除休眠的方法, 以期对粗茎秦艽的栽培生产和人工驯化提供一定的理论依据。

种子休眠是植物对环境一系列变化的长期适应性表现, 也是植物适应环境所表现出的繁殖策略之一, 其会对生产活动带来不便^[5]。所以, 研究种子的休眠机制, 对生产和科研工作的顺利进行有着重大的意义。

使用外源药物处理可打破种子的休眠, 可通过信号传导使种子内部产生生理变化, 进而调控种子的萌发^[6]。赤霉素是较为常用的植物激素, 能诱导多种编码水解酶基因进行转录, 包括 α -淀粉酶, 合成后的水解酶分泌到种子胚乳中水解淀粉和蛋白质, 为胚的发育提供营养^[7]。赵冰等^[8]采用不同浓度的赤霉素溶液浸种均提高了秀雅杜鹃 (*Rhododendron concinnum* Hemsl.) 种子的发芽率。使用强氧化剂浸种, 能在一定程度上解除种皮的机械阻碍, 促进种子萌发。刘金还等^[9]使用 30% 过氧化氢处理克氏针茅 (*Stipa krylovii* Roshev.)

种子显著提高了其出芽率和发芽势。刘雪等^[10]研究发现, 用 0.4% ~ 0.6% 的高锰酸钾溶液浸种, 能提高樟树 (*Cinnamomum camphora* (L.) Prest) 种子活力, 促进种子萌发和幼苗生长。

打破种子休眠的方法还有其他方式, Heydecker 等^[11]提出的种子引发技术, 可以提高种子出苗率, 因其出苗快而整齐, 并且成本低廉等优点得到广泛应用。聚乙二醇溶液可通过控制种子水势, 在引发期间种子积累了幼苗萌发前溶质, 吸水速度上升从而加速种子萌发^[12]。席沁等^[13]使用聚乙二醇 6000 处理偃松 (*Pinus pumila* (Pall.) Regel) 种子, 发现浓度为 10% 的聚乙二醇预处理 36 h 可将种子平均生活力提升到 94.0%。

种皮的机械阻碍可能在一定程度上影响种子萌发。慕小倩等^[14]采用机械摩擦、浓 H_2SO_4 和 NaOH 处理种皮均可打破曼陀罗 (*Datura stramonium* L.) 的休眠障碍, 促进种子萌发。种子内源抑制物也可能是导致种子休眠、不易萌发的主要因素之一。李庆梅等^[15]对 7 种栎属 (*Quercus*) 植物种子的浸提液进行了活性测定, 发现栎属种子中所含抑制物质主要是限制自身根和芽的生长, 这可能是造成其延迟萌发和出苗不整齐的原因。廖源林等^[16]对野鸦椿 (*Euscaphis japonica* (Thunb.) Dippel) 种子的研究表明, 种壳和胚均含有较高活性的内源抑制物。

1 材料与方法

1.1 材料

于 2016 年 10 月从甘肃省玛曲县欧拉乡采集粗茎秦艽种子, 在干燥环境下贮藏。选取较为饱满、大小一致的种子用于实验, 粗茎秦艽种子呈椭

圆形、黄褐色。

1.2 实验方法

1.2.1 粗茎秦艽种子吸水率测定

使用电子天平精确称取 2 g 种子, 置于 50 mL 烧杯中, 加入蒸馏水 20℃ 恒温浸种, 每隔 1 h 取出种子, 用滤纸吸干水分后称重, 直至 36 h 结束, 计算种子吸水率。

$$\text{种子吸水率} = \frac{\text{吸水后种子质量} - \text{吸水前种子质量}}{\text{吸水前种子质量}} \times 100\%$$

1.2.2 粗茎秦艽种子粗提物的制备及其抑制活性测定

(1) 种子粗提物的制备: 采用蒸馏水浸提法^[17]。称取粗茎秦艽种子 20 g, 在研钵中研碎, 加 100 mL 蒸馏水后 56℃ 恒温水浴浸提 24 h, 过滤残渣后继续浸提 2 次, 合并 3 次浸提滤液于 56℃ 浓缩并定容成 100 mL, 得到浓度为 0.2 mg/L 的种子粗提物溶液。

(2) 种子粗提物对白菜生长的影响: 参照常晖等^[18]、宋会兴等^[19]的方法。设置粗提物浓度分别为 0.02、0.04、0.08、0.12、0.16 mg/L, 以清水作为对照(CK), 于直径为 9 cm 的培养皿中加入 5 mL 粗提液, 将白菜(*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr.) 种子每皿 50 粒、于(25 ± 1)℃ 培养箱中黑暗培养, 每组处理设 3 个重复。24 h 后测定白菜种子出芽率, 48 h 后测量根长。计算抑制活性。

$$\text{抑制活性} = 1 - \frac{\text{处理组根长(出芽率)}}{\text{对照组根长(出芽率)}} \times 100\%$$

(3) 粗提物对小麦生长的影响: 参照常晖等^[18,20]的方法。设种子粗提物溶液的浓度分别为 0(清水对照)、0.08、0.12、0.16 mg/L 处理小麦(*Triticum aestivum* L.) 种子, 每个培养皿加入 5 mL 粗提液和 30 粒小麦种子, 温度设定为(27 ± 1)℃, 黑暗环境培养, 每组处理 3 个平行实验。48 h 后测定小麦地上部分和地下部分的长度, 72 h 后测定小麦叶绿素含量。叶绿素含量测定参照王玮^[21]的方法。

(4) 粗提物对粗茎秦艽种子萌发的影响: 按照前述方法, 重新制备粗茎秦艽种子粗提物溶液处理种子。分别配制浓度为 0(清水对照)、0.04、0.06、0.08、0.1 mg/L 的粗提物溶液处理组, 每个培养皿 50 粒种子并加入不同浓度的粗提液 5 mL, 每个处理组设 3 次平行重复, 20℃ 恒温黑

暗培养。培养期间采用称重法滴加粗提物溶液保持皿底湿润, 每天观测种子出芽情况, 第 15 d 测定发芽率。

$$\text{发芽率} = \frac{\text{第 15 天发芽数}}{\text{总实验种子数}} \times 100\%$$

1.2.3 打破粗茎秦艽种子休眠的方法

将野外采集的粗茎秦艽种子做如下处理: (1) 清水浸泡 24 h(对照); (2) 赤霉素溶液浸种 24 h, 浓度设定为 100、200、300、400、500 mg/L; (3) 高锰酸钾浸种 20 min, 溶液浓度设为 0.1%、0.5%、0.7%、1.0%、1.5%; (4) 聚乙二醇浸泡 12 h, 溶液浓度设定为 100、150、200、300、400 mg/L; (5) 过氧化氢浸泡 2 h, 溶液浓度设定为 0.01%、0.1%、0.5%、1.0%、1.5%。每处理组设 3 个平行重复, 每个培养皿放入 40 粒粗茎秦艽种子, 其中高锰酸钾和过氧化氢溶液处理为 3 级光照环境^[22], 培养温度为 20℃^[23]。种子萌发期间使用蒸馏水保持皿底湿润, 每天测定出芽情况, 第 7 d 测定发芽势(germination force)、第 15 d 统计发芽率(germination rate), 测量根长并计算活力指数。

$$\text{发芽势} = \frac{\text{第 7 天发芽数}}{\text{总实验种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽率} = \frac{\text{第 15 天发芽数}}{\text{总实验种子数}} \times 100\%$$

$$\text{活力指数}(Vi) = \sum \frac{Gt}{Dt} \times Ls$$

式中, Dt 是相应发芽时间, Gt 是与 Dt 时间内相应的出芽种子数, Ls 是测量根长。

1.3 数据分析

采用 Excel 2016 和 SPSS 19.0 软件对数据进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 粗茎秦艽种子的吸水性

种子吸水实验结果显示, 20℃ 下粗茎秦艽种子吸水率随浸种时间的延长而呈抛物线变化(图 1)。利用 SPSS 19.0 对吸水率的变化进行一元多项式方程拟合, 则吸水率对应浸种时间变化曲线的一元四次多项式方程为:

$$y = -0.0004x^4 + 0.0338x^3 - 1.0679x^2 + 14.039x - 6.1929 \quad (R^2 = 0.9718, P < 0.01)。$$

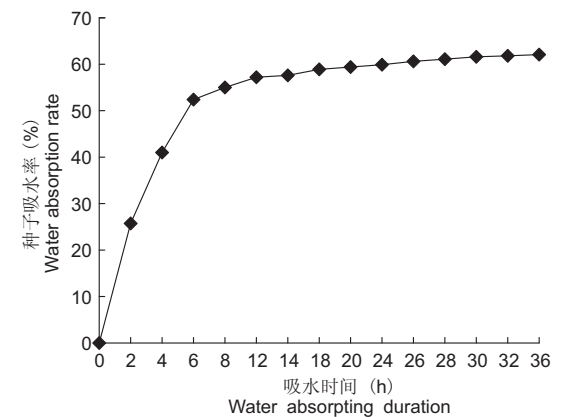


图1 20℃下粗茎秦艽种子吸水率随浸泡时间的变化
Fig. 1 Water absorption curve of *G. crassicaulis* seeds with soaking time at 20℃

从图2可见, 20℃下粗茎秦艽种子浸种吸水到6 h, 吸水率随浸种时间的延长逐渐升高, 前6 h最快, 达26.2%/h, 浸种到18 h吸水呈饱和态, 从18 h到24 h, 4 h内种子吸水率稍有下降, 说明种子略有失水的现象, 从24 h开始到36 h, 种子吸水率每小时约增长0.16%, 34 h后再次进入吸水饱和状态, 种子吸水率呈现出2个小峰值的变化。

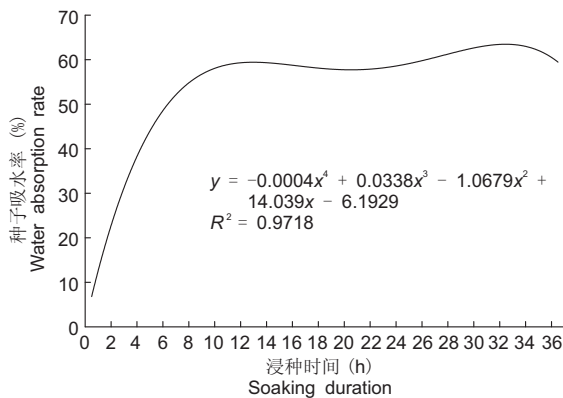


图2 20℃下粗茎秦艽种子吸水率随浸种时间的变化 (配合一元多项式方程)
Fig. 2 Water absorption curve of *G. crassicaulis* seeds with soaking time at 20℃ (based on univariate polynomial equation)

2.2 粗茎秦艽种子粗提取物的活性实验

2.2.1 种子粗提取物对白菜生长的影响

对白菜种子的活性实验显示, 随着粗提取物浓度的增大, 对白菜种子萌发和根系生长的影响越明显, 抑制活性越大(图3)。当粗提取物浓度为0.02 mg/L时, 对白菜萌发和根系生长的抑制活性最低; 随着粗提取物浓度的升高, 抑制活性也逐渐

升高, 当浓度升高到0.16 mg/L时, 抑制活性最强, 对白菜种子萌发和根系生长的抵制活性分别升高了285.51%和49.01%。说明粗茎秦艽种子可能存在内源抑制物, 具有抑制种子萌发的作用。

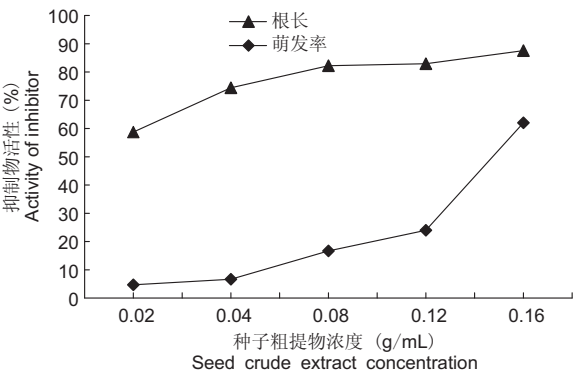


图3 粗茎秦艽种子粗提取物对白菜萌发和根系生长的影响
Fig. 3 Effect of crude extract from *G. crassicaulis* seeds on the germination and root growth of cabbage

2.2.2 种子粗提取物对小麦生长的影响

粗茎秦艽对小麦的抑制作用可体现在萌发率、地上部分生长和地下根系生长等方面。不同浓度的粗提取物对小麦种子的萌发率都有不同程度的抑制作用, 随着粗提取物浓度的升高, 抑制作用越强(表1)。当粗提取物浓度为0.16 mg/L时, 对小麦种子的萌发率($P < 0.05$)、地上部分($P < 0.01$)和地下部分($P < 0.05$)生长的抑制作用显著, 分别降低了38.98%、71.98%和69.54%, 对小麦的地上部分生长抑制作用最明显。但是, 叶绿素含量百分比之间差异不显著, 说明粗茎秦艽种子粗提取物对小麦种子的萌发、幼苗生长均有不同程度的抑制作用, 但并未干扰其叶绿素的合成。

2.2.3 粗提取物对粗茎秦艽萌发的影响

实验结果显示, 不同浓度的粗提取物对粗茎秦艽种子萌发有明显的抑制作用(表2), 随着粗提取物浓度的升高, 发芽开始天数、发芽率与对照相比均有不同程度的降低。当粗提取物浓度达到0.1 g/mL时, 种子到第9 d才开始露白, 发芽率只有27.33%, 抑制作用显著($P < 0.05$), 说明粗茎秦艽种子存在抑制其萌发的物质。

2.3 不同药剂处理对粗茎秦艽种子萌发的影响

采用不同浓度的不同药剂对粗茎秦艽种子进行休眠解除实验, 结果显示(表3), 不同药剂处理组中, 最早出芽的时间为第5 d, 比对照提前了2 d。其中, 500 mg/L赤霉素溶液和300 mg/L聚乙二

表 1 粗茎秦艽种子粗提取物对小麦种子萌发和幼苗生长的影响

Table 1 Effect of crude extract from *G. crassicaulis* seeds on the germination and seedlings of wheat

粗提物浓度 Crude extract concentration (g/mL)	处理组发芽率与 对照组的比值 Germination rate/CK (%)	处理与对照地上 部分长度百分比 Length of shoots (%)	处理与对照地下 部分长度百分比 Underground parts (%)	处理与对照叶绿素 含量百分比 Content of chlorophyll (%)
0	100 ± 0.00aA	100 ± 0.00aA	100 ± 0.00aA	100 ± 0.00bB
0.08	45.56 ± 5.09bB	85.25 ± 6.29abAB	80.08 ± 5.30aAB	102.91 ± 4.03abAB
0.12	37.78 ± 5.09bBC	73.28 ± 5.26bB	57.53 ± 5.62bB	108.98 ± 2.92abA
0.16	27.77 ± 5.10cC	23.89 ± 2.11cC	24.39 ± 2.73cC	109.68 ± 2.54aA

注：数据为平均值 ± 标准差；同列不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)，不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Notes: Data are averages ± standard deviations. Different capital letters within the same column represent extremely significant differences ($P < 0.01$), different lower-case letters represent significant differences ($P < 0.05$). Same below.

表 2 粗茎秦艽种子粗提取物对粗茎秦艽种子萌发的影响

Table 2 Effect of crude extract from
G. crassicaulis seeds on its own germination

粗提物浓度 Concentration of crude extract (g/mL)	发芽开始天数 Germination days (d)	发芽率 Germination rate (%)
0	7	56.33 ± 1.52aA
0.04	7	42.00 ± 2.00bB
0.06	8	38.33 ± 1.01cB
0.08	9	30.67 ± 1.15dC
0.1	9	27.33 ± 3.05dC

醇溶液处理效果最显著，发芽率达 92%和 90% ($P < 0.01$)，而 1.5%高锰酸钾处理的出芽率也有 89% ($P < 0.05$)，与对照组(蒸馏水)相比分别提高了 168.66%、155.53%和 152.68%。过氧化氢溶液处理与对照组相比，出芽天数提前了 1 d，发芽率最高了 73%，比赤霉素处理组低 45.94%，虽然出芽率高于对照组，但出芽效果远没有其他处理组显著。而 500 mg/L 赤霉素溶液和 300 mg/L 聚乙二醇溶液处理粗茎秦艽种子，其发芽势相对对照组分别提高了 153.89%和 146.22%；1.5%高锰酸钾处理组的发芽势提升了 157.76%；过氧化氢溶液处理组发芽势仅提升了 88.51%，相比其他处理组效果最差。

活力指数反映了种子萌发的动力强度和整齐度。与对照组相比，用聚乙二醇和赤霉素浸种对粗茎秦艽种子的活力提升效果较为明显，说明使用这两种药剂可增强种子的适应性和成活率。对照组中的种子活力低于处理组，种子萌发并长成幼苗的可能性较小，虽然处理组仅提升萌发时间 2 d，但可大幅度增加种子的萌发率和活力，使种子可以快速

萌发并长成正常的幼苗。因此，500 mg/L 赤霉素和 300 mg/L 聚乙二醇溶液浸种效果最佳。

3 讨论

3.1 影响粗茎秦艽种子萌发的因素

侯茜等^[24]研究发现，秦艽种子具有中温萌发特性，温度为 20℃时适合秦艽种子的萌发。本研究结果表明：(1)粗茎秦艽吸水过程分为 3 个阶段，符合种子吸水的一般规律，因此，粗茎秦艽种皮对吸水作用没有太大程度的阻碍；(2)高锰酸钾作为一种强氧化剂，有助于种子破皮，也可增强种子的呼吸作用以提供萌发所需要的氧气。经过不同浓度梯度的高锰酸钾溶液浸泡，粗茎秦艽种子萌发率都有一定程度的提升，1.5%高锰酸钾溶液处理出芽率可达 89%，说明其具有打破粗茎秦艽种皮机械阻碍的作用；(3)过氧化氢溶液具有一定程度的氧化作用，可以增加种皮的透气性和对氧气的吸收量，从而打破由于种皮过于坚硬而引起的种子休眠作用。但本研究发现使用过氧化氢溶液浸种对发芽率的提高效果远没有其他处理组明显，并且随着过氧化氢溶液浓度的增大，发芽率有逐渐降低的趋势，未能达到打破粗茎秦艽种子休眠的作用；(4)采用聚乙二醇浸泡引发后，粗茎秦艽种子的发芽率得到不同程度的提高，300 mg/L 的处理组出芽率最高；(5)赤霉素也可打破种子休眠，促进种子萌发。本实验采用不同浓度的赤霉素和聚乙二醇溶液处理粗茎秦艽种子后，提高了种子活力，增加了种子的适应性和生活力，当使用 500 mg/L 的赤霉素和 300 mg/L 的聚乙二醇处理时效果最好，说明其具有促进粗茎秦艽种子快速萌发并长成健康幼苗的作用。

表3 不同药剂处理对粗茎秦艽种子萌发的影响
Table 3 Germination of *G. crassicaulis* under different chemical treatments

处理 Treatment	发芽开始天数 Germination days (d)	发芽势 Germination force (%)	发芽率 Germination rate (%)	活力指数 Vitality index
CK	7	17.33 ± 3.06iH	58.40 ± 6.39IL	18.03 ± 5.60kl
100 mg/L 赤霉素 (GA ₃)	6	32.00 ± 2.02defgFH	84.16 ± 2.55bcdefCDEF	25.28 ± 4.42hijkGHI
200 mg/L 赤霉素 (GA ₃)	5	35.33 ± 4.16defCDF	78.33 ± 3.82efghFGH	29.53. ± 8.74hijkGI
300 mg/L 赤霉素 (GA ₃)	5	36.67 ± 2.11bcdeBCDEF	85.83 ± 1.44abcdeBCDE	40.18 ± 9.86fgEFGH
400 mg/L 赤霉素 (GA ₃)	5	36.00 ± 2.39cdefCDEF	88.43 ± 1.43abcdABCD	55.64 ± 6.71cdeBCD
500 mg/L 赤霉素 (GA ₃)	5	44.00 ± 2.05aABCD	92.50 ± 5.50aA	65.26 ± 9.63bcBC
0.1%高锰酸钾 (KMnO ₄)	6	30.00 ± 4.02fghEF	75.00 ± 2.50ghFHI	24.01 ± 2.27ijkGHI
0.5%高锰酸钾 (KMnO ₄)	6	34.00 ± 4.00defgEF	77.50 ± 2.50fghFGH	36.45 ± 1.87ghijDEFGHI
0.7%高锰酸钾 (KMnO ₄)	6	34.67 ± 3.08defgDEF	82.50 ± 2.51cdefgDEFG	38.30 ± 8.39fghiDEFGH
1.0%高锰酸钾 (KMnO ₄)	5	38.00 ± 2.00bcdABCDE	84.17 ± 3.82bcdefCDEF	42.19 ± 7.47efghDEFG
1.5%高锰酸钾 (KMnO ₄)	5	44.67 ± 3.64aABCD	89.17 ± 1.44abcdAB	50.96 ± 1.31defCDE
100 mg/L 聚乙二醇 (PEG)	6	34.00 ± 4.00defgEF	75.00 ± 2.50ghGHI	48.73 ± 1.96defgCDEF
150 mg/L 聚乙二醇 (PEG)	5	37.33 ± 3.05bcdeABCDE	78.33 ± 1.48efghFH	61.33 ± 3.44bcdBC
200 mg/L 聚乙二醇 (PEG)	5	42.00 ± 4.00abcABCD	81.66 ± 3.82defgEG	69.73 ± 1.62bAB
300 mg/L 聚乙二醇 (PEG)	5	42.67 ± 3.76abABC	90.83 ± 3.01abAB	73.81 ± 2.03aA
400 mg/L 聚乙二醇 (PEG)	5	38.00 ± 2.00bcdABCDE	90.00 ± 2.52abcAB	65.32 ± 1.92bcBC
0.01%过氧化氢 (H ₂ O ₂)	5	32.67 ± 3.05defgEFH	71.67 ± 3.82hijIJ	28.72 ± 8.72hijkGHI
0.1%过氧化氢 (H ₂ O ₂)	6	32.67 ± 1.15defgEFH	73.33 ± 1.44hiHI	30.73 ± 8.36hijkFGHI
0.5%过氧化氢 (H ₂ O ₂)	6	28.67 ± 1.57ghFH	71.68 ± 5.20hijIJ	28.04 ± 7.49hijkGHI
1.0%过氧化氢 (H ₂ O ₂)	6	31.33 ± 5.03efEFH	64.67 ± 3.81jkK	22.91 ± 4.26jkHI
1.5%过氧化氢 (H ₂ O ₂)	6	25.33 ± 3.05hH	66.67 ± 1.44ijJK	29.26 ± 5.87hijGH

粗茎秦艽种子的粗提物溶液在一定程度上抑制了白菜种子的萌发和根系的生长；随着粗提物浓度的升高，其对小麦种子地上、地下部分生长和出芽率具有较显著的抑制作用，说明粗茎秦艽种子内部可能存在阻碍种子萌发的物质。另外，随着粗提物浓度的升高，其对粗茎秦艽种子的萌发率也都表现出不同程度的抑制作用，当粗提物浓度为 0.1 g/mL 时，对种子萌发的抑制作用最显著 ($P < 0.05$)，这进一步说明粗茎秦艽种子存在内源性抑制物质的可能性。

Debeaujon 等^[25]研究表明，种子休眠是因为胚中存在过高浓度的抑制物，而促进种子萌发的物质浓度较低。刘文瑜等^[26]利用白三叶 (*Trifolium repens* L.) 对蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula* Gaertn.) 各部分粗提物的活性进行了测定，发现随着种子粗提物浓度的提升，白三叶的萌发率和幼苗生长逐渐降低，蒺藜苜蓿种子内存在抑制萌发的物质，本实验结果与其相似。

综上所述，成熟的粗茎秦艽种子休眠类型属

于综合性休眠 (comprehensive dormancy, PY + PD)^[27]，种皮的机械阻碍和内源抑制物都是种子休眠的因素。

3.2 打破粗茎秦艽种子休眠的处理方法

粗茎秦艽生长在高海拔地带，其种子休眠活动是植物对外界恶劣环境适应性的体现。但为了满足生产活动，需要及时打破种子休眠，达到快速萌发、出芽的目的。一些研究表明^[5-7,10]，赤霉素、高锰酸钾、聚乙二醇处理均能打破种子休眠，达到快速萌发的作用。本实验结果发现，采用 500 mg/L 赤霉素和 1.5% 高锰酸钾溶液浸种，可以打破粗茎秦艽种子休眠；300 mg/L 聚乙二醇溶液引发也有较好的萌发效果。但是，考虑到实际生产中的种植成本，建议选用高锰酸钾浸种或聚乙二醇预处理种子的方法为宜。

参考文献：

[1] 郭伟娜，魏朔南. 秦艽的生物学研究[J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(4) : 1-5, 10.

Guo WN, Wei SN. Biological research on *Gentiana macro-*

- phylla* Pall. [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2008, 27(4): 1–5, 10.
- [2] 吴靳荣, 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 JR, Zhao ZL, Meng QW. A study on the biology of *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. seeds [J]. *China Journal Chinese Materia Medica*, 2011, 36(5): 552–555.
- [3] 李建民, 李福安, 李向阳, 张华, 魏全嘉, 王祖训, 弥兰青, 肖长宁. 粗茎秦艽不同部位龙胆苦甙含量的分析[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(3): 225–227.
Li JM, Li FA, Li XY, Zhang H, Wei QJ, Wang ZX, Mi LQ, Xiao CN. Analysis on the amounts of gentiopicroside in different location of *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. [J]. *Natural Product Research and Development*, 2004, 16(3): 225–227.
- [4] 梁晋如, 朱砂, 张新新, 苏琪, 何娇, 孙文基. 粗茎秦艽的研究概况及展望[J]. 中药材, 2012, 35(3): 495–499.
Liang JR, Zhu S, Zhang XX, Su Q, He J, Sun WJ. Research progress and prospects of *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2012, 35(3): 495–499.
- [5] 赖晓辉, 李群. 种子休眠与萌发分子机制研究进展[J]. 种子, 2014, 33(5): 53–58.
Lai XH, Li Q. Molecular mechanism of seed dormancy and germination progress[J]. *Seed*, 2014, 33(5): 53–58.
- [6] 李康, 李丹青, 张佳平, 夏宜平. 鸢尾属植物种子休眠研究进展[J]. 植物科学学报, 2016, 34(4): 662–668.
Li K, Li DQ, Zhang JP, Xia YP. Review on seed in *Iris* [J]. *Plant Science Journal*, 2016, 34(4): 662–668.
- [7] 张国华, 张艳洁, 丛日晨, 赵琦, 董克奇, 古润泽. 赤霉素作用机制研究进展[J]. 西北植物学报, 2009, 29(2): 412–419.
Zhang GH, Zhang YJ, Cong RC, Zhao Q, Dong KQ, Ku RZ. Advances on gibberellins mechanism [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, 29(2): 412–419.
- [8] 赵冰, 董进英, 张冬林. 温度、光照和赤霉素浓度对秀雅杜鹃种子萌发的影响[J]. 种子, 2014, 33(5): 26–30.
Zhao B, Dong JY, Zhang DL. Effects of different temperature, light and GA₃ concentration on seed germination of *Rhododendron concinnum* [J]. *Seed*, 2014, 33(5): 26–30.
- [9] 李金还, 刘美茹, 牛建行, 王冉, 宋吉轩, 吕俊, 宗学风, 王三根. 不同处理方式对克氏针茅种子萌发及活力的影响研究[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2015, 37(7): 67–74.
Li JH, Liu MR, Niu JX, Wang R, Song JX, Lv J, Zong XF, Wang SG. Influence of different treatment method on the seed germination and vigor of the *Stipa krylovii* [J]. *Journal Southwest University: Natural Science Edition*, 2015, 37(7): 67–74.
- [10] 刘雪, 翟大才, 袁涛. 高锰酸钾溶液催芽对樟树发芽率的影响[J]. 种子, 2016, 35(1): 101–102.
Liu X, Zhai DC, Yuan T. Influence of potassium permanganate sprouting on the *Cinnamomum camphora* germination rate [J]. *Seed*, 2016, 35(1): 101–102.
- [11] Heydecker W, Higgins J, Gulliver RL. Accelerated germination by osmotic seed treatment [J]. *Nature*, 1973, 246(5427): 42–44.
- [12] 赵玥, 辛霞, 王宗礼, 卢新雄. 种子引发机理研究进展及牧草种子引发研究展望[J]. 中国草地学报, 2012, 34(3): 102–108.
Zhao Y, Xin X, Wang ZL, Lu XX. Research progress on seed priming mechanization and forage seed priming [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2012, 34(3): 102–108.
- [13] 席沁, 赵廷宁, 张成梁. 若干种子处理方法对偃松种子生活力的影响[J]. 植物科学学报, 2014, 32(4): 427–433.
Xi Q, Zhao TN, Zhang CL. Influence of treatment on *Pinus pumila* seed viability [J]. *Plant Science Journal*, 2014, 32(4): 427–433.
- [14] 慕小倩, 史雷, 赵云青, 段磊, 雷霖. 曼陀罗种子休眠机理与破眠方法研究[J]. 西北植物学报, 2011, 31(4): 683–689.
Mu XQ, Shi Lei, Zhao YQ, Duan L, Lei J. Seed dormancy mechanism and dormancy breaking method of *Datura stramonium* L. [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, 31(4): 683–689.
- [15] 李庆梅, 刘艳, 刘广全, 刘勇, 侯龙鱼, 胡金鑫. 栎属7种植物种子的发芽抑制物质研究[J]. 生态学报, 2013, 33(7): 2104–2112.
Li QM, Liu Y, Liu GQ, Liu Y, Hou LY, Hu JX. Germination inhibitory substance extracted from the seed of seven species of *Quercus* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(7): 2104–2112.
- [16] 廖源林, 蔡仕珍, 李西, 林瑞. 野鸦椿种子内源抑制物活性初探[J]. 广西植物, 2016, 36(5): 600–606, 538.
Liao YL, Cai SZ, Li X, Lin R. Preliminary study of endogenous inhibitors activity of *Euscaphis japonica* seeds [J]. *Guihaia*, 2016, 36(5): 600–606, 538.
- [17] 周艳玲, 赵敏, 彭元举, 赵雨森. 狭叶柴胡种子萌发与内源抑制物质[J]. 植物研究, 2009, 29(3): 329–332.
Zhou YL, Zhao M, Peng YJ, Zhao YS. Seed germination and endogenous inhibitory substance of *Bupleurum scorzoneraefolium* [J]. *Bulletin of Botanical*, 2009, 29(3): 329–332.
- [18] 常晖, 张小燕, 张跃进, 王渭玲, 段琦梅, 尤廷. 黄芪种子内源抑制物质的初步研究[J]. 种子, 2015, 34(1): 44–47.
Chang H, Zhang XY, Zhang YJ, Wang WL, Duan QM, You T. Study on endogenesis inhibitory substances in seed of *Astragalus membranaceus* [J]. *Seed*, 2015, 34(1): 44–47.
- [19] 宋会兴, 刘光立, 高素萍, 陈其兵. 四川牡丹种子浸提液内

- 源抑制物活性初探[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 370–374.
- Song HX, Liu GL, Gao SP, Chen QB. Effects of crude extracts of *Paeonia decomposita* seeds on germination and activities of antioxidant enzyme of *Brassica pekinensis*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(2): 370–374.
- [20] 李志丹, 韩瑞宏, 廖桂兰, 张美华. 植物叶片中叶绿素提取方法的比较研究[J]. 广东第二师范学院学报, 2011, 31(3): 80–83.
- Li ZD, Han RH, Liao GL, Zhang MH. The comparative study of the method of plant leaf chlorophyll in the extract [J]. *Journal of Guangdong University of Education*, 2011, 31(3): 80–83.
- [21] 王玮. 叶绿素含量的测定[M]//李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2003: 134–137.
- [22] 周金梅, 朱敬. 不同药剂浸泡处理对山桃桐李种子发芽的影响[J]. 经济林研究, 2015, 33(1): 92–94, 102.
- Zhou JM, Zhu J. Effects of different agent treatments on germination of *Prunus maackii* seeds[J]. *Nonwood Forest Research*, 2015, 33(1): 92–94, 102.
- [23] 刘丽莎, 姬可平. 秦艽种子发芽特性的研究[J]. 中草药, 2002, 33(3): 79–81.
- Liu LS, Ji KP. Germination characters of seed of *Gentiana macrophylla* Pall. [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2002, 33(3): 79–81.
- [24] 侯茜, 胡锋, 张帆, 龙凤. 环境因子对濒危药用植物秦艽种子萌发的影响[J]. 中国现代中药, 2016, 18(2): 178–180.
- Hou Q, Hu F, Zhang F, Long F. Effect of environmental factors on endangered medicinal plant *Gentiana macrophylla* seed germination[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2016, 18(2): 178–180.
- [25] Debeaujon I, Koornneef M. Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid [J]. *Plant Physiol*, 2000, 122(2): 415–424.
- [26] 刘文瑜, 魏小红, 许可成, 赵萌, 段正中. 蒺藜苜蓿种子休眠机制及其破除方法研究[J]. 草地学报, 2015, 32(2): 358–365.
- Liu WY, Wei XH, Xu KC, Zhao M, Duan ZZ. Study on dormancy property and breaking approaches of *Medicago truncatula* seeds[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2015, 32(2): 358–365.
- [27] Koen J, Slabbert MM, Bester C, Bierman F. Germination characteristics of dimorphic honeybush (*Cyclopia* spp.) seed[J]. *South African Journal of Botany*, 2016, 110(5): 68–47.

(责任编辑: 张平)