

· 中药农业 ·

年度间温度变化对黄檗种子性状影响的研究[△]

段学伟, 于晶, 张昭*, 徐硕, 范永芳

中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所/中草药物质基础与资源利用教育部重点试验室, 北京 100193

[摘要] **目的:** 研究不同年份黄檗种子性状的差异, 并分析导致这种差异的温度因子。**方法:** 选择种子长度作为种子大小的表征、厚度作为子叶厚度的表征, 并测定种子重量和休眠程度。单因素方差分析比较连续三年种子性状的差异, sperman 相关系数法计算温度与种子性状的相关性。**结果:** 结果表明, 不同年份黄檗种子的性状均具有显著差异, 种子长度最大差异为 6.6%, 厚度最大差异为 10.1%, 质量最大差异为 17.8%, 种子休眠程度最大差异为 204.3%; 温度与种子长度最高相关系数为 0.701, 与厚度最高相关系数为 -0.612, 与重量最高相关系数为 0.435, 与种子休眠程度最高相关系数为 0.84。**结论:** 研究结果提示, 全年温度对黄檗种子的大小均会产生影响; 子叶厚度和种子重量主要与最低温和温差有关; 在温暖和温差较小的气候条件下生长的黄檗, 其种子休眠程度较浅; 寒冷和温差较大的气候条件下生长的黄檗, 其种子的休眠程度较深。

[关键词] 黄檗; 休眠; 温度; 相关性

[中图分类号] R28; S330.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)05-0629-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20190308002

Research on Effect of Temperature Change on Characters of *Phellodendron amurense* Seeds in Different Years

DUAN Xue-wei, YU Jing, ZHAGN Zhao*, XU Shuo, FAN Yong-fang

Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education/
Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences,
Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

[Abstract] **Objective:** The purpose of this research is to investigate whether there are differences on the characters of *Phellodendron amurense* Rupr. seeds in different years and which temperature factors contribute to this difference. **Methods:** The seed length was chosen as the characterization of the seed size, the thickness as the characterization of the cotyledon thickness, and also measure seed weight and dormancy. As part of the characterization of the *Ph. amurense* seeds. One-way analysis of variance was used to compare the characters of *Ph. amurense* seeds in different years. Sperman correlation coefficient method was used to compare the correlation between temperature and characters of *Ph. amurense* seeds. **Results:** The characters of *Ph. amurense* Rupr. seeds in different years are different. The maximum difference of seed length was up to 6.6%, the maximum difference of seed thickness was up to 10.1%, the maximum difference of seed weight was up to 17.8%, and the maximum difference of seed dormancy was up to 204.3%; The maximum correlation coefficient between temperature and seed length was 0.701, the maximum correlation coefficient between temperature and thickness was -0.612, the maximum correlation coefficient between temperature and weight was 0.435, and the maximum correlation coefficient between temperature and seed dormancy was 0.84. **Conclusion:** Research results suggest the annual temperature had an effect on the size of *Ph. amurense* seeds. Cotyledon thickness and seed weight are mainly related to the lowest temperature and temperature difference; The dormancy degree of *Ph. amurense* seeds grow in warm and low diurnal temperature difference is shallow. The seed dormancy of *Ph. amurense* seeds grow in cold and diurnal temperature difference area is deep.

[Keywords] *Phellodendron amurense* Rupr.; dormancy; temperature; correlation

[△] [基金项目] 国家自然科学基金(81473305)

* [通信作者] 张昭, 研究员, 研究方向: 药用植物资源保护; Tel: (010)57833122, E-mail: zhangzhao1962@tom.com

黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 为芸香科黄檗属落叶乔木, 树皮作为中药关黄柏使用, 具泻火除蒸、消炎杀菌、清热燥湿的功效^[1]。黄檗为国家二级重点保护野生植物, 野生资源匮乏^[2]。课题组发现不同产地黄檗种子特性差异很大, 尤其是休眠程度, 所需低温解除休眠天数可相差几十乃至百天^[3], 这种现象的存在对黄檗的人工种植造成诸多的困难。目前对种子休眠的研究大多集中在对种子休眠的解除上, 而对黄檗种子休眠的原因很少涉及。本研究通过比较同一观察点相同植株不同年份种子的性状, 控制其他变量, 分析温度因子对种子性状的影响, 以期为黄檗种子休眠的形成机制研究提供理论依据以及为人工种植提供指导意见。

1 材料

黄檗种子采集于北京药用植物园, 依据在园内的不同位置, 分别标记为 Y1、Y2、Y3、Y4 和 Y5, 五个观察点的气候条件基本相同, 树龄略有不同。固定植株采集种子, 每个观察点不少于两棵树, 于每年的 10 月中旬采收黄檗果实。由于每年结果数量不同, Y1 和 Y2 采集了 2015、2016 和 2017 连续三年的果实, Y3 和 Y4 采集到了 2015 和 2016 年的果实, Y5 采集到了 2016 和 2017 年的果实。采集到的果实晒干后, 放置于阴凉干燥处保存, 实验前去除果肉, 洗净晾干后得到黄檗种子。样品经中国科学院药用植物研究所张昭研究员鉴定为黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的种子, 凭证标本保存于药用植物研究所。

2 方法

2.1 种子长度、厚度及重量的测定

每个处理随机选取 60 粒种子, 随机分成 3 组, 每组 20 粒, 游标卡尺测量种子长度及厚度; 采用千粒法, 3 个重复测量种子重量。

2.2 种子休眠程度检测

2.2.1 种子发芽率测定 取种子经蒸馏水浸泡 24 h 后, 放入 4 ℃ 冰箱分别低温层积 0、15、30、45、60、75、90、105、120、135 d。从冰箱取出后置于光照培养箱中进行萌发实验, 萌发条件为: 24 ℃, 14 h, 光照 3000 lx; 15 ℃, 10 h, 无光。每个处理

设置 5 个重复, 每个重复 50 粒种子。

2.2.2 种子休眠程度指标选择 选取种子发芽率首次达到 50% 所需低温层积天数和经低温层积后的最高发芽率作为种子休眠程度的衡量指标。

2.3 温度数据的获取

样点温度通过 HOBO U23-001 温度记录仪获取, 将温度记录仪放置于观察点附近避光通风处, 记录仪每 2 h 记录 1 次。通过物候观察, 得到黄檗萌芽期为每年的 4 月 3 日至 11 日; 花期为每年的 4 月 21 日至 27 日; 果期为每年的 5 月 9 日至 8 月 26 日; 生长期为每年的 4 月 3 日至 10 月 18 日。各物候期的日均温度总和为各物候期积温; 各物候期的日均温平均值为各物候期均温; 各物候期日最高温与日最低温差值的平均值为各物候期的平均温差; 一年中日平均气温大于 20 ℃ 日平均气温的总和为大于 20 ℃ 积温。温度数据见表 1。

表 1 2015 年至 2017 年温度数据

温度因子	℃		
	2015 年	2016 年	2017 年
萌芽期积温	105.91	138.15	142.94
萌芽期均温	11.77	15.35	15.88
萌芽期平均温差	10.61	14.44	10.48
花期积温	123.54	139.31	124.18
花期均温	17.65	19.90	17.74
花期平均温差	16.61	11.84	14.44
果期积温	2 809.40	2 867.57	2 908.66
果期均温	25.54	26.07	26.44
果期平均温差	11.47	10.99	11.90
生长期积温	4 439.66	4 582.80	4 601.32
生长期均温	22.42	23.03	23.10
生长期平均最高温	28.37	28.67	29.10
生长期平均最低温	16.79	17.21	17.07
生长期平均温差	11.58	11.46	12.03
年积温	5 332.86	5 122.65	5 235.73
年均温	13.78	14.03	14.38
年平均最高温	19.20	19.47	20.08
年平均最低温	8.67	8.60	8.71
年平均温差	10.53	10.87	11.37
大于 20 度积温	3 479.56	3 609.11	3 855.25

2.4 数据分析方法

数据统计分析采用 SPSS V21.0。差异性分析采用单因素方差分析法；相关性分析采用 speraman 法。

3 结果

3.1 不同年份种子长度、厚度及重量比较

在本研究中，通过长度表征种子大小、厚度表征子叶厚度。由于只有 Y1 和 Y2 连续三年采集到种子，种子年度间性状的比较只选取 Y1 和 Y2 两个观察点数据。测量 2015、2016 和 2017 年 Y1 和 Y2 的种子长度、厚度和重量，数据见表 2。

表 2 不同年份黄檗种子性状比较

年份	长度/mm		厚度/mm		重量/g	
	Y1	Y2	Y1	Y2	Y1	Y2
2015 年	4.82C	4.99C	1.99Ab	2.09Bb	1.815 1Bb	2.084 7Bb
2016 年	5.14A	5.24A	1.88Bc	1.99Bc	1.726 8Bc	2.025 1Bc
2017 年	5.07B	5.18B	2.07Aa	2.15Aa	1.919 7Aa	2.203 2Aa

注：同一列不同字母表示差异显著，大小写字母分别代表 $P < 0.01$, $P < 0.05$ 。

三年间种子性状具有显著性差异：Y1 和 Y2 的种子长度均为 2016 年 > 2017 年 > 2015 年，差异最大为 0.32 mm；Y1 和 Y2 的种子厚度均为 2017 年 > 2015 年 > 2016 年，差异最大为 0.19 mm；Y1 和 Y2 种子重量均为 2017 年 > 2015 年 > 2016 年，差异最大为 0.192 9 g。

3.2 不同年份种子休眠程度比较

不同年份种子休眠程度结果见图 1、表 3。由图 1 可以看出，两个观察点不同年份间的种子休眠程度总体趋势相同，均为在低温层积 0 ~ 60 d 内，发芽率排序为 2017 年 > 2016 年 > 2015 年；在低温层积 120、135 d 时，发芽率排序为 2016 年 > 2017 年 > 2015 年。

三年间 Y1 和 Y2 的休眠程度均具有显著性差异(表 3)。在观察点 Y1 中，2015 年种子休眠程度最深，三年间发芽率达到 50% 所需低温天数最大差异可达 61 d，最高发芽率差异可达 25%；观察点 Y2 与 Y1 结果相似，2015 年种子休眠程度最深，三年间发芽率达到 50% 所需低温天数最大差异可达 60 d，最高发芽率差异可达 30%。

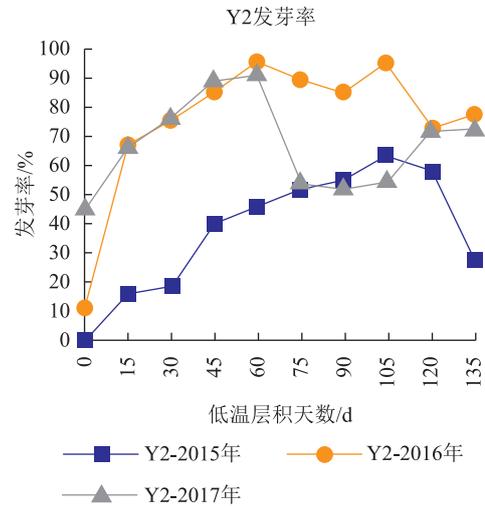
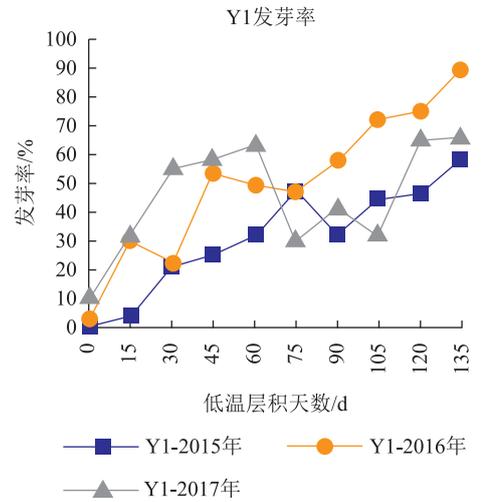


图 1 不同年份黄檗种子发芽率比较

表 3 Y1、Y2 观察点黄檗种子休眠程度比较

年份	达到 50% 所需低温天数/d		最高发芽率/%	
	Y1	Y2	Y1	Y2
2015 年	91Aa	71Aa	64Bc	66Bc
2016 年	45Bb	15Bb	89Aa	96Aa
2017 年	30Bc	11Bc	78Ab	93Ab

注：同一列不同字母表示差异显著，大小写字母分别代表 $P < 0.01$, $P < 0.05$ 。

3.3 相关性分析结果

3.3.1 种子长度、厚度和重量与温度的相关性 在研究温度对黄檗种子性状的影响时，考虑到萌芽期、花期时，种子尚未长出，所以只考察了果期、生长期的年度温度数据对种子性状的影响。种子长度、厚度和重量与温度的相关性见表 4。

表4 种子长度、厚度和重量与温度的相关性

温度因子	长度/相关系数	厚度/相关系数	重量/相关系数
果期积温	0.516**	0.010	0.310
果期均温	0.516**	0.010	0.310
果期平均最高温	0.516**	0.430	0.430
果期平均最低温	0.701**	-0.612**	0.430
果期平均温差	-0.100	0.583**	0.430
生长期积温	0.516**	0.010	0.310
生长期均温	0.516**	0.010	0.310
生长期平均最高温	0.516**	0.010	0.310
生长期平均最低温	0.701**	-0.612**	-0.100
生长期平均温差	-0.100	0.583**	0.435*
年均温	0.516**	0.010	0.310
年平均最高温	0.516**	0.010	0.310
年平均最低温	-0.100	0.583**	0.435*
年平均温差	0.516**	0.010	0.310
大于20度积温	0.516**	0.010	0.310

注:**表示 $P < 0.01$ 。

由表4可以看出,温度对种子长度、厚度和重量均有影响。除果期平均温差、生长期平均温差和年平均最低温外,各物候期温度均与种子长度呈正相关,其中影响最大的温度因素是果期平均最低温与生长期平均最低温,相关系数均达到了0.701。结果显示年均温度与种子长度呈正相关,这与童应鹏、胡剑剑对薏苡^[4]、车前^[5]的研究结果相同。果期平均最低温与生长期平均最低温对种子厚度影响呈负相关,相关系数为-0.612,果期平均温差,生长期平均温差和年平均最低温对种子厚度的影响呈正相关,相关系数为0.583。影响种子重量的温度因子只有生长期平均温差与年平均最低温,均为正相关,相关系数为0.435。

3.3.2 休眠程度与温度的相关性 在休眠程度与温度的相关性分析中,包含5个观察点的全部数据,Y1与Y2观察点的种子休眠程度见表3,Y3、Y4、Y5观察点的种子休眠程度见表5。种子休眠程度与温度的相关系数见表6。

表5 Y3、Y4、Y5 观察点黄檗种子休眠程度

编号	达到50%低温天数/d	最高发芽率/%
Y3-2015年	135.00	46.00
Y3-2016年	35.00	93.33
Y4-2015年	90.00	76.50
Y4-2016年	15.00	96.00
Y5-2016年	25.00	96.00
Y5-2017年	41.25	72.00

表6 休眠程度与温度的相关性

温度因子	低温天数/相关系数	最高发芽率/相关系数
萌芽期积温	-0.721**	0.443**
萌芽期均温	-0.743**	0.439**
萌芽期平均温差	-0.100	0.528**
花期积温	-0.725**	0.84**
花期均温	-0.732**	0.834**
花期平均温差	0.711**	-0.838**
果期积温	-0.721**	0.443**
果期均温	-0.743**	0.439**
果期平均温差	0.100	-0.528**
生长期积温	-0.721**	0.443**
生长期均温	-0.743**	0.439**
生长期平均最高温	-0.721**	0.443**
生长期平均最低温	-0.711**	0.838**
生长期平均温差	0.100	-0.528**
年均温	-0.743**	0.439**
年平均最高温	-0.721**	0.443**
年平均最低温	0.120	0.524**
年平均温差	-0.743**	0.439**
大于20℃积温	-0.743**	0.439**

注:**表示 $P < 0.01$ 。

对种子达到50%发芽率所需低温天数影响最大的温度因子是萌芽期均温、果期均温、生长期均温、年均温、年平均温差和大于20℃积温,相关系数为-0.743;对黄檗种子最高发芽率影响最大的是花期积温,相关系数为0.84,与最高发芽率呈负相关的温度因子有花期平均温差、果期平均温差,生长期平均温差和年平均最低温。

种子达到50%发芽率所需低温天数和最高发芽率从不同侧面反映了种子的休眠程度,由表6可以看出,温度与两者相关系数的正负值均为相反,除温差外,温度因子均与休眠程度均呈显著性负相关,这与拟南芥、紫花苜蓿种子休眠程度对温度的响应一致^[6-7]。在具有显著相关的因子中,只有花期、果期和生长期的温差与休眠程度呈正相关,说明在温暖的气候条件下,种子休眠程度较浅,各物候期的温差存在较大差异时,种子的休眠程度较深。

4 结论

除果期平均温差、生长期平均温差和年平均低温外,其余温度因子均对种子长度均有显著性影响,

说明全年温度均对种子大小产生影响;对厚度和重量有显著性影响的温度因子分别只有5个和2个,且全为最低温和温差,说明子叶厚度与种子重量主要与最低温和温差有关。

Y1和Y2两个观察点中,三年间的休眠程度趋势基本相同,温度与休眠程度的相关性数据表明,各物候期积温和均温均与休眠程度呈负相关,说明积温和均温越高,休眠程度越低,在温暖和温差较小的气候条件下生长的黄檗,其种子休眠程度较浅;寒冷和温差较大的气候条件下生长的黄檗,其种子的休眠程度较深。

5 讨论

本研究选取同一观察点不同年份的黄檗种子作为分析对象,可以单纯考察不同年份间气候因子对黄檗种子性状的影响。课题组之前研究表明,气候对黄檗的影响主要体现在温度因子上^[8],现在的大多数研究中温度数据都较为粗糙,多为年均数据或月均数据,本研究通过在样点放置温度检测器,记录样点每日温度,可以将年均数据细分为各物候期温度,这样得出的数据更具有针对性。在评价黄檗种子休眠程度时,采用了种子达到50%发芽率所需低温层积天数和种子能达到的最高发芽率两个指标,这两个评价指标比大多数研究中评价休眠程度时采用的相同低温天数处理下达到的发芽率更能客观的反映种子的休眠程度。

目前黄檗育苗主要有春播和秋播两种方式,春播需要沙藏低温处理^[9]。本研究表明不同年份间的黄檗种子休眠程度具有差异,生产所用种子可能取自不同地点,休眠程度差别更大,沙藏低温处理的时间很难把握,因此建议育苗时选择秋播。

全球气候的变化会对不同物种的种子产生不同的影响^[10],全球变暖有利于轮叶马先蒿种子的萌发和

扩散^[11],不利于华北落叶松种群的更新^[12]。黄檗产区的温度随着全球变暖会变得更高,这将有利于黄檗的物种繁殖,对缓解黄檗资源衰竭的状况有利。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:146-147.
- [2] 傅立国. 中国植物红皮书-稀有濒危植物:第1册[M]. 北京:科学出版社,1991:151.
- [3] 黄少雄,段学伟,张昭,等. 黄柏苷对黄檗种子休眠程度影响的初步研究[J]. 中国农学通报,2018,34(16):78-82.
- [4] 童应鹏,朱虹,李珊,等. 不同产地栽培薏苡种子性状的变异分析[J]. 西北植物学报,2011,31(10):2008-2013.
- [5] 胡泉剑,李爱花,杨娟,等. 不同产地车前种子重量、萌发特性及其影响因子[J]. 植物分类与资源报,2013,35(3):310-316.
- [6] SCHMUTHS H, BACHMANN K, WEBER W E, et al. Effects of preconditioning and temperature during germination of 73 natural accessions. of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Annals of botany*,2006,97(4):623-634.
- [7] 任鸿远. 紫花苜蓿生长特性与温度关系的研究[D]. 西安:西北农林科技大学,2007.
- [8] 刘琰璐. 黄檗种子质量标准及休眠生理研究[D]. 北京:北京协和医学院,2012.
- [9] 刘军. 黄檗药用林栽培技术研究[J]. 吉林林业科技,2007,36(1):45-47.
- [10] ROLF B, KEVIN R, MARK D, et al. Phenology of temperate trees in tropical climates [J]. *International journal of biometeorology*,2005,50(1):57-65.
- [11] 隋晓琳,李爱荣,管开云. 气候变化和种子萌发特性对轮叶马先蒿种群扩张的影响[J]. 生态环境学报,2013,22(7):1099-1104.
- [12] 石晓东,高润梅,陈龙涛. 模拟气候变化对2针叶树种种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 中国水土保持科学,2016,14(5):66-73.

(收稿日期:2019-03-08 编辑:姚霞)