

丹参种子的生物学特性

李晓琳¹, 展晓日^{1,2}, 李颖¹, 王瑞霞³, 邵爱娟^{1*}

- (1. 中国中医科学院 中药资源中心, 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700;
2. 杭州师范大学 生命与环境科学学院, 杭州 310036;
3. 临沂大学 生命科学学院, 山东 临沂 276005)

[摘要] **目的:**研究丹参种子的形态结构、萌发与贮藏特性,为丹参规范化栽培和种子长期贮藏提供参考。**方法:**形态结构研究采用体视显微镜和石蜡切片法观察种子的外观形态、解剖结构和显微结构并拍照;萌发特性研究考察丹参种子萌发的温度范围、最适宜温度以及光照对种子萌发的影响;贮藏特性研究考察不同贮藏含水量和贮藏温度下种子活力的变化,从而确定最优化的贮藏含水量和贮藏温度。**结果:**①丹参种子在15~35℃均萌发较好,最适萌发温度为20~30℃;15/25℃,20/30℃的变化温度能有效促进种子萌发,高温下光照可抑制种子萌发;②低温贮藏效果优于室温贮藏;较高或较低的含水量会导致种子活力的快速降低,丹参种子的最佳贮藏含水量为5%,贮藏温度为4℃。③丹参果实的果皮由黏液细胞层、薄壁细胞层、单层石细胞、厚壁细胞层组成。吸水后黏液细胞膨胀、破裂,释放出胶状黏液质。**结论:**丹参种子萌发温度范围广泛,可在大部分地区种植,育苗时可采用变温方法快速促进种子萌发,提高出苗率。含水量和贮藏温度是丹参种子贮藏中需要严格控制的重要指标,最适宜贮藏方法为低温干藏。丹参种子迅速而大量吸水的特性与黏液细胞层有关,这种结构虽然有利于种子保持水分、抵抗干旱,但不利于种子贮藏。

[关键词] 丹参种子; 萌发; 贮藏; 显微结构

[中图分类号] R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)18-0027-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016180027

Biological Characteristics of *Salvia miltiorrhiza* Seed

LI Xiao-lin¹, ZHAN Xiao-ri^{1,2}, LI Ying¹, WANG Rui-xia³, SHAO Ai-juan^{1*}

- (1. State Key Laboratory Breeding Base of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. College of Life Sciences and Environment Science, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China;
3. College of Life Science, Linyi University, Linyi 276005, China)

[Abstract] **Objective:** To provide technical reference for standardization planting and long-term storage of *Salvia miltiorrhiza* seed by studying seed structure, germination and storage characteristics. **Method:** In the study of morphology and structure, seeds and their paraffin sections were observed, and photos were taken by the dissecting microscope and electron microscope. In the study of germination, the optimal temperature and different light conditions were investigated. In the study of storage characteristics, the changes in seed viability at different water content and temperature conditions were investigated to determine optimal storage temperature and water content. **Result:** ① *S. miltiorrhiza* seeds can well germinate at 15-35℃, with the optimal temperature between 20-30℃. Fluctuating temperatures at 15/25℃ and 20/30℃ can increase the germination rate. Light can decrease the germination rate at high temperature. ② Low-temperature storage was better than room-temperature storage. Higher or lower water content could lead to the sharp decrease of seed viability. The optimal storage condition was

[收稿日期] 20151113(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102757);中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(ZZ0808012)

[第一作者] 李晓琳,博士,助理研究员,从事中药鉴定及中药材种子生物学研究,Tel:010-64014411-2837,E-mail:water_in_sky@163.com

[通讯作者] *邵爱娟,研究员,从事中药鉴定及中药资源研究,Tel:010-64014411-2201,E-mail:shaoaijuansaj@163.com

4 °C, with 5% of water content. ③ The pericarp of *S. miltiorrhiza* consisted of the mucilage cell layer, the parenchyma cell layer, the single sclereid layer and the sclerenchyma cell layer. After absorbing water, the mucilage cells swelled, ruptured and released a lot of gelatinous mucus. **Conclusion:** *S. miltiorrhiza* has a wide seed germination temperature range, and can be planted in most areas of China. In seedling, fluctuating temperatures can be used to promote seed germination and increase the seedling emergence rate of *S. miltiorrhiza*. Temperature and water content are important factors in the storage of *S. miltiorrhiza* seeds. The optimal storage method is low temperature and low water content. The characteristics of *S. miltiorrhiza* seeds of rapidly absorbing a large amount of water were related to the structure of the mucilage cell layer. This structure is conducive to maintaining the seed moisture and resisting the drought, but bad for seed storage.

[**Key words**] *Salvia miltiorrhiza* seed; germination; storage; microstructure

丹参为唇形科 Lamiaceae 多年生草本植物,其根及根茎入药,又名紫丹参、赤参、逐马、奔马草等,是我国传统的大宗中药材^[1]。用于治疗胸痹心痛,脘腹胁痛,癥瘕积聚,热痹疼痛,心烦不眠,月经不调,痛经经闭,疮疡肿痛等,在临床上主治冠心病、心肌梗死、心绞痛等病症^[2-3]。生产上丹参主要采用种子繁殖,但丹参花期较长,种子成熟度不一致,导致自然萌芽率低,一般仅为 30% ~ 40%,且出苗不整齐^[4];种子极不耐储藏,常温下种子寿命仅为 7 个月^[5],这为丹参的栽培和生产带来极大的困难。因此,研究丹参种子的萌发特性和贮藏特性,寻找一个经济、有效的种子贮藏方法具有重要意义。丹参种子萌发的适宜温度^[6-7]、光照条件^[7]已有初步研究,但考查的萌发温度以及不同温度下光照对种子萌发的影响不够全面,对适宜萌发温度的定义也有不同的报道。

本文考查了从 5 ~ 35 °C 光照和黑暗条件下丹参种子的萌发情况,温度范围广泛,数据更为准确全面。成清琴等^[3]对丹参种子的超干贮藏进行了研究,但仅考查了常温超干贮藏,而 4 °C 和 -18 ~ -25 °C 才是种子中期和长期贮藏的常用温度,因而本文考查了丹参种子低温(4 °C 和 -20 °C)超干贮藏状态。种子的萌发和贮藏特性通常与种子的结构密不可分。丹参种子的果皮表面存在黏液物质,能够快速而大量吸水,这种结构有利于种子保持水分、抵抗干旱等恶劣环境^[6],但同时也给种子的长期贮藏带来难题。孙群等^[8]采用体视显微镜和扫描电镜观察了丹参种子的形态结构,本文采用石蜡切片法着重对丹参种子的显微结构进行了观察,研究种子结构与贮藏特性的关系,为丹参种子贮藏提供参考依据。

1 材料

Friocell 404 型光照培养箱(德国 MMM), MICROM HM325 型转轮式切片仪(德国 Thermo

Scientific), CFY-II 型种子吹风机(浙江托普), SZX16 型体视显微镜和 BX51 型显微镜(日本 Olympus)。乙醇、二甲苯等试剂(国药集团化学试剂有限公司)。丹参种子 2013 由山东莱芜紫光生态园丹参基地提供,采自于二年生紫花丹参植株,由中国中医科学院中药研究所邵爱娟研究员鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的种子,室温阴干后用种子吹风机去除杂质和干瘪种子,留下饱满种子作为实验材料。

2 方法与结果

2.1 种子含水量测定 丹参种子含水量按照国际种子检验协会(International Seed Testing Association, 1999)^[9]的方法测定,结果以鲜重为基础表示(%),重复 3 次,每次重复 50 粒种子。

2.2 种子萌发特性研究 丹参种子置于铺有双层滤纸的 9 cm 塑料培养皿中,加入蒸馏水 5 mL,分别在恒温 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C 以及变温 15/25 °C 和 20/30 °C (变温周期为 10/14 h),持续黑暗或光照(光照强度为 66.3 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 下培养。胚根突破种皮 2 mm 作为萌发完成的标准。4 次重复,每次重复 25 粒种子。

2.3 贮藏处理 贮藏含水量:包括初始含水量, 5%, 3.5% 含水量。初始含水量为采收后种子在室温阴干 1 周后的含水量;5% 和 3.5% 的含水量采用硅胶干燥法对丹参种子进行快速脱水处理。贮藏温度:4 °C 和 -20 °C。初始含水量的种子在室温(20 °C)贮藏作为对照。丹参种子脱水至适宜含水量后立刻用 3 层铝箔袋密封贮藏于不同温度。分别贮藏 0, 3, 6, 12 个月时检查种子活力,种子活力用种子的存活率表示,即 25 °C,光照条件下萌发率,光照强度及其余萌发条件同上。

2.4 种子形态结构研究 种子外部形态采用体视显微镜观察,种子的大小采用游标卡尺测定($n =$

30)。千粒重 ($n = 3$) 参照国家标准 GB2772-1990^[10], 采用百粒法测定。种子显微结构采用石蜡切片法观察。取成熟的丹参种子在 FAA 固定液中固定 1 个月, 依次用 70%, 80%, 90%, 95%, 无水乙醇逐级脱水, 每次 2~3 h。二甲苯透明[无水乙醇-二甲苯(1:1)1 h; 二甲苯 1 h, 至少 2 次至种子透明]。透明后的材料置于 65 °C 恒温箱中浸蜡, 每隔 30 min 加固体石蜡, 共加 3 次, 然后置换成纯石蜡在恒温箱中放置 6 h, 使石蜡充分浸入种子中。包埋后修块、切片, 切片厚度为 12 μm 。切好的蜡片在展片仪上展开, 并于 50 °C 烤干。在二甲苯中脱蜡, 梯度乙醇复水后番红染色 2 h 左右, 系列乙醇逐级脱水后, 放入固绿溶液中染色, 乙醇洗涤后二甲苯透明封片。在显微镜下观察、拍照。

2.5 丹参种子萌发对温度的响应 丹参种子在 5 °C 不萌发, 在 10 °C 仅有 18% 萌发, 在 15~35 °C 萌发较好, 所以丹参种子萌发的温度范围是 15~35 °C, 最适宜萌发温度为 20~30 °C (图 1)。在 15/25 °C 和 20/30 °C 的变化温度下的萌发率显著高于恒温下的萌发率, 说明变化温度更有利于丹参种子的萌发, 但 2 种变温条件下的萌发率无显著差异 (图 1)。在低温 (10 °C) 下, 光照条件下萌发率高于黑暗条件; 但在高温 (35 °C) 下, 光照条件的萌发率显著低于黑暗条件, 仅为 30%, 说明高温下光照可能抑制了丹参种子的萌发 (图 1)。在中间温度和变温条件下, 光照对丹参种子的萌发无显著影响 (图 1)。

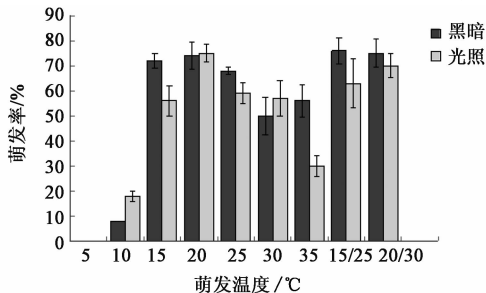


图 1 温度和光照对丹参种子萌发的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)
Fig. 1 Effects of temperature and light on germination of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* seeds ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

2.6 不同贮藏条件下种子活力变化 贮藏前丹参种子的初始含水量为 6.6%。不经过硅胶干燥处理的丹参种子 (含水量为 6.6%) 在室温下贮藏 3 个月时种子存活率为 65%, 与在 4 °C 和 -20 °C 贮藏的种子无显著差异; 贮藏 3 个月以后, 活力降至 35% 以下, 显著低于其他贮藏条件。说明丹参种子在室温下不耐贮藏, 贮藏 3 个月可保持种子活力。从图 2 可见, 贮藏 6 个月内, 5% 含水量的种子活力基本保

持不变, 初始含水量和 3.5% 含水量的种子活力略微下降; 贮藏 6 个月后不同含水量的种子活力显著下降, 贮藏 12 个月时, 5% 含水量, 4 °C 贮藏的种子活力最高, 为 35%, 其余条件均降至 26% 以下。贮藏 3 个月时, 4 °C 和 -20 °C 2 种贮藏温度对种子活力影响不大, 贮藏 6 个月以后 (包括 6 个月), 除 5% 含水量以外, 4 °C 贮藏的种子活力高于 -20 °C。因此, 丹参种子最佳贮藏含水量为 5%, 贮藏温度为 4 °C, 可贮藏 6 个月保持种子活力基本不变。

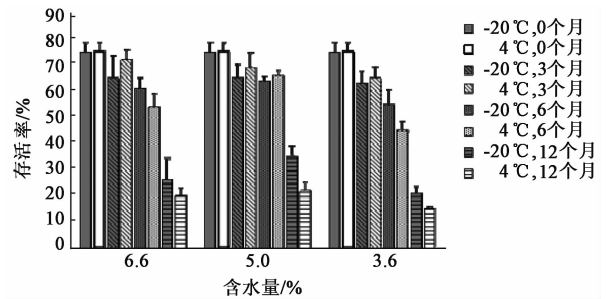


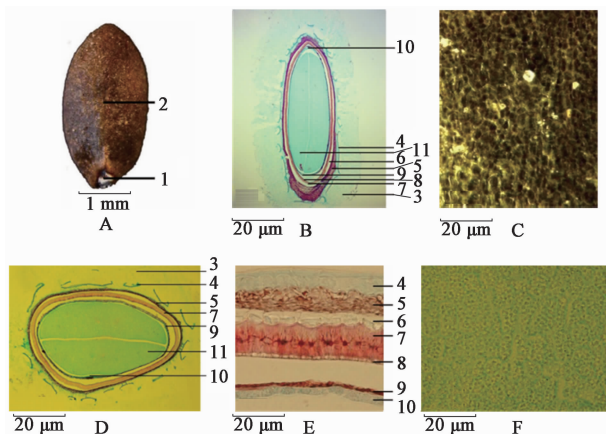
图 2 贮藏过程中种子活力的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)
Fig. 2 Change in seed vitality during storage of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* seeds ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

2.7 种子外观性状及显微结构特征 丹参为小坚果, 三棱状长椭圆形, 长 2.24~3.06 mm, 宽 1.08~1.80 mm, 茶褐色或灰黑色, 表面有不规则的圆状突起及灰白色蜡质斑 (图 3A, C)。背面稍平微拱凸, 腹面隆起成纵脊, 圆钝 (图 3A)。果脐近圆形, 白色, 边缘隆起, 位于腹面纵脊下方 (图 3A)。千粒重 1.9 kg。胚直生, 乳白色, 子叶 2 枚。具一薄层胚乳 (图 3B)。

丹参外果皮为 1~2 层黏液细胞, 部分黏液细胞破裂释放出黏液质。中果皮由 4~5 层薄壁细胞组成, 内含棕色色素, 靠近种脐或种脊处细胞层数增加为 7~8 层 (图 3B, D, E)。内果皮最外侧为 1 列大的薄壁细胞, 内含草酸钙柱晶, 长约 89.7~225.6 μm , 宽约 51.3~102.6 μm ; 中间为一列大型石细胞层, 孔沟细密, 均木质化, 中央含红色色素; 最内侧为一列厚壁细胞, 含有草酸钙小方晶 (图 3E)。种皮膜质, 为深红棕色的颓废色素细胞层 (图 3B, D, E)。种皮内侧为胚乳细胞层, 略薄 (图 3B, D, E)。种胚细胞为较大的薄壁细胞, 内含大量的脂肪油滴 (图 3F)。

3 讨论

孙群等^[6]报道丹参种子萌发的最适宜温度在 25~30 °C, 和根强等^[7]在 2014 年报道为 20~25 °C, 30 °C 时种子的发芽率为 8.42%, 35 °C 以上没有种子萌发。笔者发现 30 °C 丹参种子发芽较好, 发芽



A. 种子外观; B. 种子纵切面; C. 种皮外观; D. 种子横切面; E. 种皮的显微结构; F. 胚细胞。1. 种脐; 2. 种脊; 3. 黏液质; 4. 黏液细胞; 5. 薄壁细胞; 6. 内果皮外层的薄壁细胞; 7. 石细胞; 8. 厚壁细胞; 9. 色素层; 10. 胚乳细胞

图 3 丹参种子形态及解剖结构

Fig. 3 Morphological and anatomical structures of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* seeds

率可达到 57% ,35 ℃ 丹参种子可以萌发,黑暗条件下的萌发率与 30 ℃ 大致相同,但略低于 20,25 ℃。因此,笔者认为丹参种子在 15 ~ 35 ℃ 均萌发较好,最适萌发温度为 20 ~ 30 ℃。变温显著促进种子萌发,15/25 ℃ 和 20/30 ℃ 2 种变温条件对种子萌发的影响无显著差异。和根强等^[7]认为全光照比无光照的发芽势和发芽率都高,但他们只考察了 10 ℃ 和 25 ℃,结果表明 10,30 ℃ 光照条件下发芽率较高,其余温度光照条件下发芽率都有所降低,尤其是 15,35 ℃ 发芽率降低显著,20 ℃ 光照对发芽率无显著影响。因此笔者认为不同温度条件下光照对丹参种子萌发的影响不同,高温下光照会抑制种子萌发。

超低水分含量状态能使种子细胞膜的结构与功能、细胞内细胞器及超微结构、细胞遗传物质等保持稳定和完整。世界联合国粮农组织 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 和国际植物遗传资源委员会 (The International Board for Plant Genetic Resources, IBPGR) 制定的长期保存种子种质的理想条件是 5% ~ 7% 的含水量和 -18 ~ -25 ℃ 的贮藏温度。含水量的控制在丹参种子贮藏中至关重要,过高或过低的含水量均会

降低丹参种子活力。超干冷藏是目前丹参种子最便捷且行之有效的贮藏方法。成清琴等^[3]认为丹参种子的最佳贮藏含水量为 7.5% 左右。笔者的实验结果表明,丹参种子的最佳贮藏含水量为 5% 左右,最佳贮藏温度为 4 ℃,也可以选择 -20 ℃ 冷藏。在室温下不耐贮藏,仅可贮藏 3 个月。

丹参种子具有快速而大量吸水的特性,种子吸水 2 h 即可达到原重的 10 倍左右^[6],这是由于其果皮表面具有黏液细胞层,吸水后黏液细胞破裂释放出胶状黏液质。虽然黏液层具有保持水分的优良特性,有利于丹参种子抵抗干旱等不良环境,但同时也导致了种子在贮藏过程中更易吸收环境中的水分,不利于保持较低的含水量。丹参种子的结构和快速吸水的特性与其不耐贮藏有关。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2010:70-71.
 [2] 马丙祥,董凯凯. 丹参的药理作用研究新进展[J]. 中国药房,2014,25(7):663-665.
 [3] 成清琴,王磊,陈娟,等. 丹参种子的超干贮藏研究[J]. 中草药,2010,41(5):825-829.
 [4] 淡红梅,祁建军,周丽莉,等. 丹参种子质量检验方法的研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(17):2090-2093.
 [5] 成清琴. 丹参种子的超干贮藏研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2010.
 [6] 孙群,刘文婷,梁宗锁,等. 丹参种子的吸水特性及发芽条件研究[J]. 西北植物学报,2003,23(9):1518-1521.
 [7] 和根强,薛润光,郭承刚,等. 丹参种子的萌发特性研究[J]. 种子,2014,33(4):82-85.
 [8] 孙群,梁宗锁,李绍军,等. 丹参种子丹参种子形态结构与吸水萌发特性[J]. 中国中药杂志,2004,29(10):934-938.
 [9] International Seed Testing Association. International rules for seed testing[S]. Seed Sci Technol,1999,27(Supplement):47.
 [10] 国家质量技术监督局. 林木种子检验规程[S]. 北京:中国标准出版社,2000:23-24.

[责任编辑 邹晓翠]