

谢慧敏,汪贵斌,夏禹,等. 不同产地喜树种子生物学特性差异[J]. 江苏农业科学,2017,45(15):122–124.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2017.15.031

不同产地喜树种子生物学特性差异

谢慧敏^{1,2},汪贵斌^{1,2},夏禹^{1,2},曹福亮^{1,2},祖元刚³

(1. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心,江苏南京 210037; 2. 南京林业大学林学院,江苏南京 210037;
3. 东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室,黑龙江哈尔滨 150040)

摘要:为了解不同产地喜树(*Camptotheca acuminata*)种子的生物学特性,以6个产地的喜树种子为试验材料,分别测定种子的长度、宽度、厚度、千粒质量、发芽率、可溶性糖含量、喜树碱的含量等种子生物学参数。结果表明,不同产地间喜树种子的生物学特性存在显著性差异。喜树种子的长度、宽度和厚度变幅分别为19.69~24.20、5.37~6.82、3.09~3.67 mm;种子千粒质量的变幅为28.93~48.49 g;发芽率的变幅为46.5%~79.87%;种子可溶性糖和喜树碱含量的变幅分别为4.23~9.16、1.27~1.74 mg/g。结果发现,云南昆明产地喜树种子的发芽率和喜树碱含量都较高,是较优良的种子资源。

关键词:喜树;种源;种子;生物学特性;喜树碱

中图分类号: S792.990.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2017)15–0122–03

喜树(*Camptotheca acuminata*)为蓝果树科喜树属植物,多年生落叶阔叶树,也是我国特有的珍稀树种。喜树干形通直、树姿优美,有很高的观赏价值;喜树中还含有抗癌物喜树碱,因而被国内外广泛关注^[1–2],目前多作为叶用林、用材林和风景林大面积栽培。我国喜树分布很广,最南端分布在云南省西双版纳地区,最北端则分布在陕西省秦岭地区。集中分布在江浙一带以及长江以北部分地区。我国的野生喜树资源很丰富,其中,四川省喜树资源最多,约占我国喜树总资源的一半,其次为广东和广西等^[3]。目前,有关喜树的研究主要集中在栽培技术^[4]、生长发育规律^[5–6]、喜树碱产量和定位^[7–8]等方面,对喜树种子的研究主要集中在喜树种子的萌发和喜树碱含量的变化^[9]方面,而有关不同产地喜树种子生物学特性的差异鲜见报道。笔者通过对喜树6个产地种子的生物学

特性进行研究,揭示不同产地喜树种子之间的生物学特性差异,为选择优良种源及进一步选种、育种和种子生产与调拨等提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2014年12月中下旬,分别采集江苏南京、贵州麻江、贵州荔波、贵州下司东山、云南昆明、湖北荆州6个产地的喜树种子(表1),由于喜树分布广泛,在选择试验材料产地时考虑到气候对树种的影响,则按照气候区域的分布采集喜树种子。种子采下后进行初步去杂质处理,在4℃恒温箱内干燥保存。于2015年3月开始试验。以四分法挑选大小均匀的种子作为试验材料。

表1 不同种源的地理环境

地点	气候	纬度(N)	经度(E)	生境	母树年龄(年)	年降水量(mm)	气温(℃)	海拔(m)	其他
江苏南京	亚热带季风气候	32°04′46.95″	118°48′47.40″	校园	20~30	500~1 900	15.4	22	
湖北荆州	亚热带季风性湿润气候	30°20′06.09″	112°12′35.27″	平原	15~23	1 100~1 300	15.9~16.6	20~50	
贵州麻江	亚热带湿润性季风气候	26°29′41.12″	107°35′7.16″	山地	25~35	1 200~1 500	14.0~16.0	930	
贵州荔波	亚热带湿润性季风气候	25°24′51.47″	107°53′0.08″	山地	25~35	1 320	18.3	1 600	
贵州下司东山	亚热带湿润性季风气候	26°31′15.45″	107°48′3.67″	山地	25~35	1 380	16.5	750~1 210	土壤多为黄壤
云南昆明	高原季风气候、热带雨林	25°03′37.51″	102°45′13.37″	山地	21~30	1 011	15.0	1 891	

1.2 试验方法

1.2.1 形态指标 各种源随机取出100粒种子,游标卡尺测

收稿日期:2016–03–29

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD21B05);江苏省高校优势学科建设工程(编号:PAPD)。

作者简介:谢慧敏(1991—),女,山东菏泽人,硕士研究生,主要从事喜树优质种源筛选及遗传多样性方面的研究。E-mail:554542588@qq.com。

通信作者:汪贵斌,教授,主要从事经济林栽培方面研究。Tel: (025) 85428004; E-mail: guibinwnag99@163.com。

定每粒种子长(种子纵轴方向)、宽(平行子叶且与纵轴垂直方向)及厚(垂直子叶方向)。

1.2.2 发芽率 每个种源取100粒种子,用电子天平称质量,共做3组,取平均值,即为种子百粒质量,计算千粒质量。每个种源选取30粒喜树种子,重复3次,发芽试验采用沙床试验方法,以两片子叶展开、幼苗生长良好为正常幼苗。发芽试验周期为14 d,统计发芽种苗数。

1.2.3 内含物含量测定 可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法^[10]。将样品放置于电热恒温鼓风干燥箱中1 d,然后用电子天平称取干燥的喜树种子质量,剥去无法研磨均匀的种

子外壳,取出最内层种子,将其研磨均匀,称取 3 份,每份 0.1 g(即 3 个重复)放入试管,放入 5.0 mL 蒸馏水,用塑料薄膜封口,于沸水浴中提取 1 h。冷却后吸取提取液 0.5 mL 于试管中,加入蒸馏水 1.5 mL,再加 0.5 mL 萘酮乙酸乙酯和 5.0 mL 浓 H_2SO_4 ,充分振荡后,立即加入沸水浴准确保温 1 min,自然冷却至室温,以空白(2.0 mL 水 + 0.5 mL 萘酮乙酸乙酯 + 5.0 mL 浓 H_2SO_4)作参比,用紫外分光光度计测定 630 nm 波长处吸光度,可溶性糖含量计算方式如下:

可溶性糖含量 = $(c \times V \times n) / (10^6 \times V_s \times m) \times 100\%$ 。

式中: c 为标准方程所得的糖量(mg); V_s 为测定时吸取样品液体积(mL); V 为提取液总量(mL); n 为稀释倍数; m 为样品质量(g), $m = 0.1$ g。

喜树碱含量测定采用孙世芹等的方法^[11],使用高效液相色谱仪进行测定分析。

1.3 数据分析处理

试验数据用 Excel 2010 与 SPSS 19.0 软件进行处理分析,采用 Duncan's 法进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同种源喜树种子形态差异

由图 1 可知,下司东山的喜树种子长度最长,湖北荆州的喜树种子长度最短,下司东山比湖北产地的种子长 15.8%,每个产地喜树种子长度基本上都在 20.00 ~ 25.00 mm 范围,整体表现为下司东山 > 昆明 > 南京 > 荔波 > 麻江 > 荆州。下司东山种子最长,为 23.61 mm,其次是云南昆明的 22.41 mm;长度最短的是荆州的喜树种子,仅有 19.88 mm。由图 1 误差线可看出,麻江的种子长度标准差最大,离散程度最高,波动范围最大,南京的种子长度最稳定。方差分析表明,不同产地喜树种子长度的差异不显著($F = 3.058 < F_{0.05} = 3.20, P = 0.057$)。

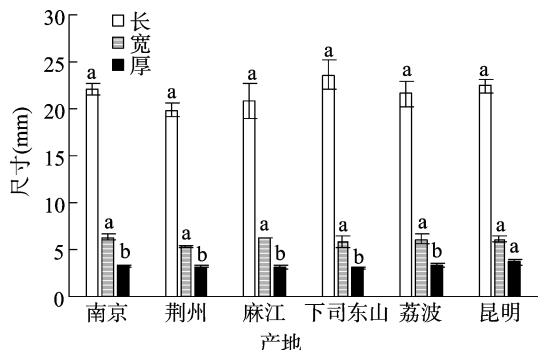


图1 不同产地喜树种子的长度、宽度、厚度

由图 1 可知,南京喜树种子宽度最大,达 6.34 mm,其次是麻江种子(6.22 mm),荆州的喜树种子宽度最小。总体来看,喜树种子的宽度基本都在 5.00 ~ 6.00 mm 范围,表现为南京 > 麻江 > 荔波 > 昆明 > 下司东山 > 荆州。由图 1 误差线可看出,下司东山的喜树种子长度标准差最大,离散程度最高,波动范围最大,麻江的种子宽度最稳定。方差分析表明,不同产地喜树种子宽度的差异不显著($F = 1.123 < F_{0.05} = 3.20, P = 0.403$)。

由图 1 可知,昆明喜树种子的厚度最大(3.71 mm),其次是南京(3.27 mm),下司东山的喜树种子厚度最小(3.06 mm)。总体上看,基本都在 3.00 ~ 4.00 mm 之间,整体

呈现为昆明 > 南京 > 荔波 > 荆州 > 麻江 > 下司东山。由图 1 误差线可看出,昆明喜树种子厚度的标准差最大,离散程度最高,波动范围最大,南京的种子厚度最稳定。方差分析表明,不同产地喜树种子厚度的差异显著($F = 5.040 > F_{0.05} = 3.20, P = 0.012$)。

2.2 不同种源喜树种子的千粒质量和发芽率

由图 2 可知,云南昆明种源的千粒质量最大,为 48.427 g;贵州麻江种源千粒质量最小,为 28.904 g。贵州荔波、贵州下司东山、江苏南京的千粒质量分别为 39.5、35.7、34.0 g。方差分析表明,各种源种子千粒质量差异达到极显著水平($F = 5.935 > F_{0.01} = 4.67, P = 0.004$)。

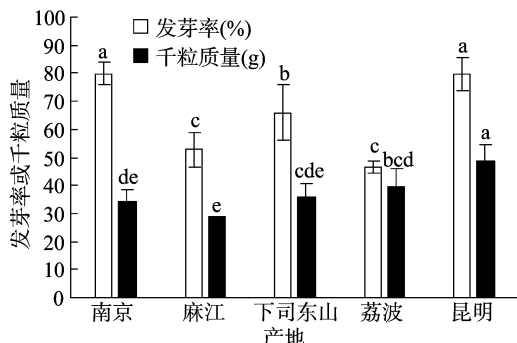


图2 不同产地喜树种子的发芽率、千粒质量

江苏南京的种子发芽率最高,为 79.9%;而贵州荔波种子的发芽率最低,为 46.5%。云南昆明、贵州下司东山和贵州麻江种子的发芽率分别为 79.7%、65.9% 和 52.8%。不同种源喜树种子发芽率的差异达到极显著水平($F = 17.983 > F_{0.01} = 5.99, P = 0.000$)。

2.3 不同种源喜树种子可溶性糖和喜树碱的含量

由图 3 可知,种子内可溶性糖含量最高的是麻江的喜树种子(9.15 mg/g);其次是昆明(8.14 mg/g),荆州的喜树种子内可溶性糖含量最低(4.23 mg/g),具体为麻江 > 昆明 > 南京 > 下司东山 > 荔波 > 荆州。方差分析表明,不同产地喜树种子内可溶性糖含量差异达极显著水平($F = 10.189 > F_{0.01} = 5.06, P = 0.001$)。由图 3 中误差线可知,南京的标准差最大,离散程度最高,波动范围最大,麻江的种子内可溶性糖含量最稳定,波动较小。

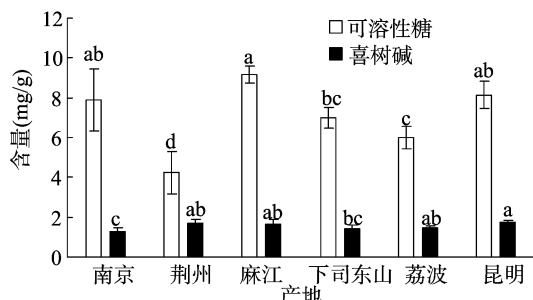


图3 不同产地喜树种子内可溶性糖和喜树碱的含量

种子中喜树碱含量最高的是昆明,为 1.74 mg/g;其次是荆州(1.70 mg/g),而南京的种子中喜树碱含量最低,为 1.27 mg/g;喜树碱的含量表现为昆明 > 荆州 > 麻江 > 荔波 > 下司东山 > 南京。由图 3 中误差线可知,南京的标准差最大,离散程度最高,波动范围最大,昆明的种子中喜树碱含量最稳

定,波动较小。方差分析表明,不同产地喜树种子中喜树碱含量差异达显著水平($F=3.848 > F_{0.05}=3.11, P=0.026$)。说明不同产地喜树种子中喜树碱含量之间有较大差异,不同产地对于喜树碱含量的影响较大。

3 结论与讨论

树木的种子形态指标是一种较稳定的形状,在树木分类及林木遗传研究上也具有重要价值^[12]。种子的形态大小只有在同一植物种内或品种内才是相对稳定的,而当范围缩小至种群甚至个体,种子的形态大小就会出现差异^[12-13]。分析发现,不同种源喜树种子的长和宽无显著差异,而种子厚度存在显著差异,表明种子的大小和形态在不同种源间存在分化。综合长、宽、厚三者来看,下司东山的长最大(23.61 mm),而厚最小(3.06 mm),可见下司东山的种子较细长,荆州种子的长和宽都是最小的,较其他种源的种子瘦小,荆州的种子没有进行种子发芽试验,但经过在大田种植的情况看,荆州喜树种子的出苗率较高,出苗也很整齐。不同种源之间喜树种子的厚度有显著差异,可见不同产地的地理环境对喜树种子的形态还是有影响的。

种子的大小和饱满程度可以通过种子的千粒质量来衡量,种子越大越饱满,含有的营养物质就越多,则种子后期的萌发就会有越多的营养物质提供,发芽也越整齐^[14]。研究表明,种子越大越饱满,苗木生长越好,生物量也越高^[15]。种子的大小和饱满程度还会受生长环境条件的影响,不同种源的喜树种子生长环境不同,如气候、土壤、降雨等条件不同,种子种所积累的营养物质含量也会不同,环境条件通过影响种子中营养物质的积累来影响种子的质量^[16]。本试验发现云南昆明的喜树种子千粒质量最大,发芽率也仅次于南京,可溶性糖含量仅次于麻江,可见千粒质量和可溶性糖的含量对发芽率的影响很大。而且通过不同环境条件对种子形状的影响,可以为喜树种源区划和优良种源筛选提供依据^[17-20]。

当种子开始萌发时,种子内含有的营养物质被用来生长,如储存在胚中的可溶性糖、少量的蛋白质和一些氨基酸,之后淀粉和蛋白质成为种子萌发过程中的主要营养物质来源^[9]。经本试验研究发现可溶性糖含量高的产地发芽率也很高,可溶性糖含量低的产地发芽率也很低。而麻江县的喜树种子可溶性糖含量很高而发芽率很低,可能是因为在做发芽试验时浇水太多从而导致发芽率很低。

喜树碱在叶、种子以及幼枝中含量较高,木质部和髓中较低^[21]。对于喜树种源选取时,喜树碱含量是很重要的指标,由测出的喜树碱含量可见种子中喜树碱的含量是较高的。云南、湖北的麻江县的喜树种子喜树碱含量更高,更具有利用价值。南京和下司东山产地的种子中喜树碱含量较低。由此可见,我国西南和中南产地的喜树种子中喜树碱含量较高一些,可能与这些产地的温和气候、湿润土壤有一定关系^[22]。

笔者通过对喜树种子大小、发芽率比较和可溶性糖、喜树碱含量的测定,发现不同产地的喜树种子差异性显著。云南产地的喜树种子发芽率和喜树碱含量都较高,是较优良的种子资源。南京产地的喜树种子发芽率很高,但种子中喜树碱的含量较低。而荔波产地的喜树种子发芽率和喜树碱含量都很低。以上是对喜树种子产地的生物学特性的初步探讨,在

今后的研究中,可以从分子标记方向对不同产地的喜树种子做进一步的研究。

参考文献:

- [1] Wall M E, Wani M C, Cooke E C, et al. Plant antitumor agents I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukaemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata* [J]. Journal of the American Chemical Society, 1966, 88: 3888 - 3890.
- [2] Staker B L, Feese M D, Cushman M, et al. Structures of three classes of anticancer agents bound to the human topoisomerase I - DNA covalent complex [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 48(7): 2336 - 2345.
- [3] 张德辉. 喜树资源生态学的研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2001: 33 - 36.
- [4] 吴家胜, 应叶青, 周国模, 等. 喜树叶用园施用氮磷钾肥料的效应 [J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(3): 29 - 31.
- [5] 周国模, 李孝青, 储家森, 等. 喜树幼树和萌芽条生长规律及性状相关 [J]. 浙江林学院学报, 2000, 17(4): 355 - 359.
- [6] 应叶青, 吴家胜, 周国模, 等. 喜树种源苗期性状遗传变异研究 [J]. 林业科学研究, 2004, 17(6): 751 - 756.
- [7] 刘文哲, 王自芬. 喜树幼枝的喜树碱积累及其组织内定位 [J]. 植物生理与分子生物学报, 2004, 30(4): 405 - 412.
- [8] 祖元刚, 高崇洋, 王文杰, 等. 喜树替代紫茎泽兰过程中根际微生物群落特征 [J]. 中国科学 C 辑(生命科学), 2006, 36(5): 459 - 467.
- [9] 张玉红, 王洋, 阎秀峰. 喜树种子萌发和幼苗发育过程中喜树碱含量的变化 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(6): 575 - 577.
- [10] 张立军, 樊金娟. 植物生理学实验教程 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2007: 57 - 72.
- [11] 孙世芹, 阎秀峰. 氮素水平对喜树幼苗喜树碱含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2003, 8(2): 356 - 359.
- [12] 任华东, 姚小华. 樟树种子性状产地表型变异研究 [J]. 江西农业大学学报, 2000, 22(3): 370 - 375.
- [13] 栗宏林, 张志翔, 张鑫. 小桐子不同产地种子性状及苗期生长差异研究 [J]. 干旱区资源与环境, 2010, 24(2): 204 - 208.
- [14] 苏金乐. 园林苗圃学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 43 - 54.
- [15] 喻方圆, 刘远. 聚乙二醇渗透处理对马尾松种子活力的影响 [J]. 南京林业大学学报, 2000, 24(1): 38 - 40.
- [16] 方升佐, 朱梅, 唐罗忠, 等. 不同种源青檀种子的营养成分及种子活力的差异 [J]. 植物资源与环境学报, 1998, 7(2): 16 - 21.
- [17] 余诚祺, 方升佐, 杨万霞. 青钱柳种子形态特征的地理变异 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2008, 32(4): 63 - 66.
- [18] 刘永红, 杨培华, 韩创举, 等. 油松不同种源种实性状的变异分析 [J]. 浙江林学院学报, 2008, 25(2): 163 - 168.
- [19] 杨志玲, 杨旭, 谭梓峰, 等. 厚朴不同种源及家系种子性状的变异 [J]. 中南林业科技大学学报, 2009, 29(5): 49 - 55.
- [20] 黄雪方, 金雅琴, 李冬林. 乌桕不同种源种子性状的地理变异 [J]. 西南林业大学学报, 2011, 31(4): 44 - 48.
- [21] Martins S M, Wendling T, Gonçalves V M, et al. Development and validation of a simple reversed - phase HPLC method for the determination of camptothecin in animal organs following administration in solid lipid nanoparticles [J]. Journal of Chromatography B, 2012, 880(1): 100 - 107.
- [22] 张雪. 喜树不同种源对低温胁迫的响应 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2011: 18 - 20.