

打破新鲜蛇莓种子休眠方法的研究

高健强, 郑燕飞, 赵成刚, 陈波, 吴定军

(铜仁学院 生物科学与化学系, 贵州 铜仁 554300)

摘要:以贵州省各地引种的不同蛇莓为试材,通过蒸馏水、自来水、浓硫酸、盐酸、氢氧化钠、洗洁精、光照、40℃保温、无菌培养、含生长素和多种元素的培养基培养、摩擦除去部分果皮等方法打破蛇莓种子休眠,研究其种子萌发因素及休眠原因。结果表明:蛇莓种子存在较明显的休眠现象和多种休眠原因,但用加热、氢氧化钠、光照等条件组合办法能打破种子休眠,发芽率可达90%,种子休眠原因有待进一步研究。

关键词:新鲜蛇莓种子;打破休眠;发芽率;休眠原因

中图分类号:S 567.23⁺⁹ **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2012)02—0078—03

蛇莓(*Duchesnea indica* Focke)为蔷薇科蛇莓属多年生宿根草本,别名地杨梅、龙吐珠等,全草入药,具有显著的抗菌和抗肿瘤作用^[1],受到国内外学者的关注。近年,蛇莓在园林中应用很多^[2],除作草坪外,还可做成漂亮的盆景,是2008年北京奥运会推广应用的优良地被植物^[3]。但是,蛇莓种子繁殖难题没有解决,快速繁殖体系没有完善。该研究着重从打破新鲜蛇莓种子休眠的方法探索蛇莓种子萌发因素和休眠的原因。

第一作者简介:高健强(1972-),男,湖南桃江人,硕士,讲师,现主要从事植物学及植物遗传与育种研究工作。E-mail: gaojian-qiang72@126.com。

基金项目:贵州教育厅青年资助项目(黔教科(2008101));铜仁学院教改资助项目(TXJ2009(31))。

收稿日期:2011—11—01

1 材料与方法

用2009年5月采集的贵州省各地引种的不同蛇莓的种子^[4],分别通过蒸馏水、自来水、浓硫酸、盐酸、氢氧化钠、洗洁精、光照、40℃保温、无菌培养、含生长素和多种元素的培养基培养、摩擦除去部分果皮等办法处理,利用Spss 13.0等进行数据分析,探究新鲜蛇莓种子休眠的原因和解除休眠的方法。

其中加热、氢氧化钠、光照等条件组合办法为^[5]:摘取萼片向下翻起的成熟蛇莓果实,去掉萼片和果柄,留下球形的聚合瘦果,置于恒温鼓风干燥箱中,40℃保持48~96 h,直到聚合瘦果干燥,种子易于脱落。将脱粒的干种子1 000颗粒直接放入50 mL的1.5 mol/L的NaOH溶液中,不停搅拌15~30 min,用蒸馏水冲洗3~5次,浸泡在500 mL蒸馏水中30 min,再用蒸馏水冲洗3~5次。将蒸馏水冲洗过的种子放入1 000 mL的锥形

Research on Cutting Propagation of Several Crassulaceae Plants

SUN Li-ping

(Beijing Institute of Landscape Architecture, Beijing 100102)

Abstract: Using *Sedum bybridum* cv. Immeryrunchett, *Sedum kamtschaticum*, *Sedum spurium* ‘Coccineum’, *Hylotelephium erythrostictum*, *Sedum sarmentosum* and *Sedum lineare* as material, the rooting time, survival rate, growth rate, oversummering, yellow period and turning green period were studied. The results showed that *Sedum sarmentosum* had fastest rooting time and largest number of branches but *Hylotelephium erythrostictum* had slowest rooting time and smallest number of branches. The survival rate was 100% that was no significant difference among the several crassulaceae plants. *Sedum bybridum* cv. Immeryrunchett, *Sedum kamtschaticum*, *Hylotelephium erythrostictum*, *Sedum sarmentosum* and *Sedum lineare* were oversummering except *Sedum spurium* ‘Coccineum’. *Sedum spurium* ‘Coccineum’ had latest yellow period and first turning green period but *Sedum lineare* was no overwintering.

Key words: crassulaceae plants; cutting propagation; rooting time; oversummering

瓶中,加入200 mL蒸馏水,25~35℃,每天10 h光照,光照度1 000 lx,锥形瓶口敞开,培养10~15 d,每天换蒸馏水1次。将保湿培养过的蛇莓种子,置于培养皿中装有0.5 mm孔径网筛筛过的无菌细河沙上,培养皿敞开,让蛇莓种子浸泡在1 mm深的蒸馏水中,25~35℃,每天10 h光照,光照度1 000 lx,培养25~35 d,形成幼苗。将幼苗移栽入花盆,可以用喷雾器喷施叶面肥1次,长到4~5片真叶时移栽到地里,可长成成苗。

2 结果与分析

2.1 单因素处理解除休眠

新鲜蛇莓种子确实存在休眠现象,但单独用一般方法无法很好地解除其休眠。新鲜蛇莓种子20 d内的发芽速度最快(图1),单独用一般方法,发芽率一般低于60%(表1)。20 d以后,将会有种子很慢地发芽,一直延续3~4个月之久(图1)。这是蛇莓适应野生环境的一种表现,也反应了其存在明显的休眠现象,单独用一般方法无法很好地解除其休眠。

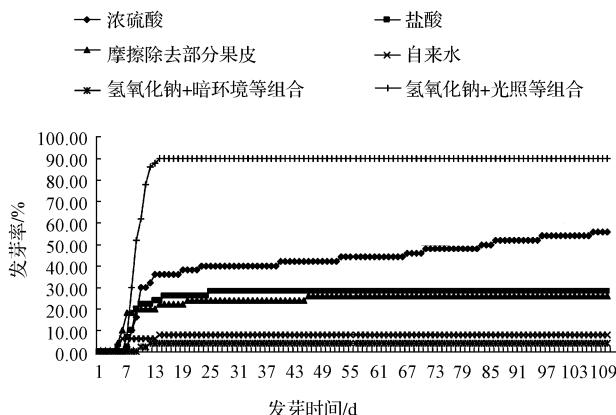


图1 不同处理下新鲜蛇莓种子110 d内的发芽率

表1 不同处理下新鲜蛇莓种子20 d内的发芽率比较

处理	发芽率/%	处理	发芽率/%
自来水	6.00±2.00	含多种元素的培养基培养	26.00±4.00
蒸馏水	11.00±3.61	盐酸	27.33±8.08
洗洁精	20.67±3.06	光照	28.67±5.77
40℃保湿	24.00±3.46	浓硫酸	35.33±11.37
无菌培养	24.67±4.16	含生长素的培养基培养	41.33±4.16
摩擦除去部分果皮	24.67±5.03	氢氧化钠	47.33±3.06

2.2 多因素处理解除休眠

可用加热、氢氧化钠、光照等条件组合办法能打破种子休眠,发芽率可达90%^[5]。目前蛇莓主要靠分株繁殖,而蛇莓种子千粒重才0.2~0.4 g,体积很小,繁殖难,不利于杂种优势和遗传规律的研究,该研究申请并公开了专利,目的就是发明一种简单经济的种子繁殖技术,打破蛇莓种子休眠,加大繁殖系数,完善蛇莓快繁体系。研究发现,单独用加热、氢氧化钠、光照等处理,蛇莓种子发芽率较低:(24.00±3.46)%、(28.67±5.77)%、(47.33±3.06)% (表1、图1),但在加热、氢氧化钠、光照

等条件组合办法处理后(见前述方法)的第2周进入快速萌发时期(图1),其发芽率可达90%(图2)。

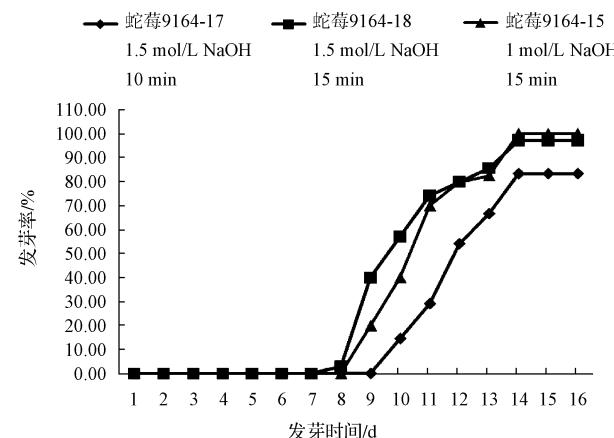


图2 蛇莓种子在加热、NaOH、光照等条件组合办法处理后萌发的情况

2.3 新鲜蛇莓种子的休眠原因

2.3.1 蛇莓外果皮存在非极性分子组成物质(如蜡质等)的保护层 分别用50颗种子分别用蒸馏水和NaOH溶液处理后,分别测定用显微镜分别测定其长宽,多重比较的结果(表2)显示,种子长处理序号1和5之间、处理序号2和5之间分别存在0.001627647的极显著和0.031081466的显著差异,种子宽处理序号1和4之间、处理序号2和4之间分别存在0.022041422和0.039133946的显著差异,表明种子的宽在48 h后出现显著差异,种子的长在72 h后才出现显著差异,这属于不容易吸收水分的种子,其外果皮发亮不与水相溶,表现为非极性物质特征。

表2 干燥的新鲜蛇莓种子用蒸馏水和氢氧化钠溶液浸泡不同时间的长宽多重比较结果

Dependent Variable	(I)		(J)		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval				
	处理序号	处理序号	Mean					Lower Bound	Upper Bound			
			(I)	(J)								
种子长	1	2	-0.023	0.022596008	0.309739606	-0.06751	0.021507	0.001627647	0.031081466			
	3	2	-0.007	0.022596008	0.756984572	-0.05151	0.037507					
	4	2	-0.032	0.022596008	0.157993103	-0.07651	0.012507					
	5	2	-0.072 **	0.022596008	0.001627647	-0.11651	-0.02749					
	2	1	0.023	0.022596008	0.309739606	-0.02151	0.067507	0.022041422	0.039133946			
	3	1	0.016	0.022596008	0.479562678	-0.02851	0.060507					
	4	1	-0.009	0.022596008	0.690755612	-0.05351	0.035507					
	5	1	-0.049 *	0.022596008	0.031081466	-0.09351	-0.00449					
	3	2	0.007	0.022596008	0.756984572	-0.03751	0.051507	0.04373877	0.044373877			
	4	2	-0.016	0.022596008	0.479562678	-0.06051	0.028507					
	5	2	-0.025	0.022596008	0.289642877	-0.06951	0.019507					
	4	1	-0.065 **	0.022596008	0.004373877	-0.10951	-0.02049					
种子宽	1	2	0.032	0.022596008	0.157993103	-0.01251	0.076507	0.04373877	0.044373877			
	2	1	0.009	0.022596008	0.690755612	-0.03551	0.053507					
	3	1	0.025	0.022596008	0.289642877	-0.01951	0.069507					
	5	1	-0.04	0.022596008	0.077933432	-0.08451	0.004507					
	2	1	0.072 **	0.022596008	0.001627647	0.027493	0.116507	0.044373877	0.044373877			
	3	1	0.049 *	0.022596008	0.031081466	0.004493	0.093507					
	3	2	0.065 **	0.022596008	0.004373877	0.020493	0.109507					
	4	2	0.04	0.022596008	0.077933432	-0.00451	0.084507					

续表 2

Dependent Variable	(I) 处理序号	(J) 序号	Mean Difference (I-J)			95% Confidence Interval		
			处理	处理	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
种子宽	1	2	-0.004	0.017358642	0.817947791	-0.03819	0.030191	
		3	-0.026	0.017358642	0.135469089	-0.06019	0.008191	
		4	-0.04 *	0.017358642	0.022041422	-0.07419	-0.05581	
		5	-0.021	0.017358642	0.227532362	-0.05519	0.013191	
	2	1	0.004	0.017358642	0.817947791	-0.03019	0.038191	
		3	-0.022	0.017358642	0.20622265	-0.05619	0.012191	
		4	-0.036 *	0.017358642	0.039133946	-0.07019	-0.000181	
		5	-0.017	0.017358642	0.328378416	-0.05119	0.017191	
	3	1	0.026	0.017358642	0.135469089	-0.00819	0.060191	
		2	0.022	0.017358642	0.20622265	-0.01219	0.056191	
		4	-0.014	0.017358642	0.420728317	-0.04819	0.020191	
		5	0.005	0.017358642	0.773558897	-0.02919	0.039191	
	4	1	0.04 *	0.017358642	0.022041422	0.005809	0.074191	
		2	0.036 *	0.017358642	0.039133946	0.001809	0.070191	
		3	0.014	0.017358642	0.420728317	-0.02019	0.048191	
		5	0.019	0.017358642	0.274786247	-0.01519	0.053191	
	5	1	0.021	0.017358642	0.227532362	-0.01319	0.055191	
		2	0.017	0.017358642	0.328378416	-0.01719	0.051191	
		3	-0.005	0.017358642	0.773558897	-0.03919	0.029191	
		4	-0.019	0.017358642	0.274786247	-0.05319	0.015191	

注：“*”表示在 $P<0.05$ 差异显著。其中处理序号 1、2、3、4、5 分别指蒸馏水浸泡 20 min, 1.5 mol/L 氢氧化钠浸泡 15 min, 蒸馏水浸泡 24 h, 蒸馏水浸泡 48 h, 蒸馏水浸泡 72 h。

2.3.2 蛇莓果皮致密坚固,能防水,抗浓硫酸的碳化 研究中发现用 98% 的浓硫酸处理种子 20 min, 尽管表面碳化,但用红墨水染色和种子发芽试验,3~4 个月后种子还能发芽(图 1)。说明其抗浓硫酸的保护作用很强,浓硫酸能一定程度地提高蛇莓发芽率,但作用不很明显。

2.3.3 不同蛇莓种质的种子休眠具有显著差异 用不同处理方法研究中发现,不同的蛇莓种子的休眠程度有较大的差异,这是遗传因素导致了蛇莓内在抑制物的含量和后熟作用的长短而引起的。

2.3.4 适当高温可以加速蛇莓后熟 光照是蛇莓萌发的一个重要因素,生长素不是引起蛇莓休眠的主要原因由表 1 和图 1 可知,40℃ 保温($24.00 \pm 3.46\%$)%、光照($28.67 \pm 5.77\%$)% 和生长素($41.33 \pm 4.16\%$)% 等单因素处理,比蒸馏水($11.00 \pm 3.61\%$)% 处理的发芽率都高,但都小于 50%;而暗处理($<10\%$)比蒸馏水($11.00 \pm 3.61\%$)%

处理的发芽率还低,表明高温、光照是破除新鲜种子休眠的必要条件,而生长素($41.33 \pm 4.16\%$)% 不是引起蛇莓休眠的主要原因。

3 讨论

种子休眠是指有活力的种子,由于某些内在因素或外在条件的影响,使种子不能发芽或出现发芽困难的自然现象。有活力的种子处于休眠状态有 2 种情况:强迫休眠和生理休眠,蛇莓种子属于后者。氢氧化钠在该研究处理方法中起很重要的作用,表明蛇莓内部存在酸性抑制物,引起蛇莓休眠,这是主要的因素。脱落酸等酸性活性物质可能是蛇莓休眠的主要抑制剂,碱性物质对蛇莓的脱落酸等有中和抑制作用^[6]。该种物质是哪种脱落酸,有待进一步研究。研究中发现,“氢氧化钠+光照等组合处理(90%)”和“氢氧化钠+暗环境等组合处理(4%)”的种子发芽率相差太大(图 1),说明蛇莓种子发芽需要光照。其机理有待进一步研究。盛振兴等研究发现蛇莓在 1 a 和 2 a 之后,自动解除休眠,但仍然需要光照,促使其发芽^[7],其自动解除休眠机制和人为破除休眠的机制有待进一步研究。另外,蛇莓果皮致密坚固,能防水,抗浓硫酸的碳化,其机理有待深入研究。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1985;211.
- [2] 李彦辉, 张妍, 刘志林. 蛇莓引种栽培及其生态特性研究[J]. 河北林果研究, 2006, 21(3):276-280.
- [3] 郑维霞, 胡强, 王长久. 乡土地被植物—蛇莓的应用研究与推广[J]. 北方园艺, 2006(3):102-104.
- [4] 李代琴, 周智, 代勇, 等. 贵州喀斯特地区野生蛇莓引种研究[J]. 铜仁学院学报, 2010, 12(6):140-144.
- [5] 高健强, 沈正雄, 郑燕飞, 等. 一种蛇莓种子的繁殖方法[S]. 中国专利局, 专利号:201010236367.5. 2010. 11. 24.
- [6] 黄锦华, 呼天明, 郑红梅. 3 种藏嵩草种子休眠及内源脱落酸含量的研究[J]. 西北农业学报, 2009, 18(3):152-155.
- [7] 盛振兴, 朱立敬. 蛇莓种子出芽率测试研究[J]. 山东林业科技, 2010(2):54-55.

The Research on the Way Breaking Fresh *Duchesnea indica* Seed Dormancy

GAO Jian-qiang, ZHENG Yan-fei, ZHAO Cheng-gang, CHEN Bo, WU Ding-jun

(Department of Biology Science and Chemistry, Tongren University, Tongren, Guizhou 554300)

Abstract: Fresh *Duchesnea indica* seeds were experimented by different ways such as distilled water, tap water, H_2SO_4 , HCl , NaOH , cleanser essence, illumination, germfree culture, different culture medium or scrubing part of seed capsule etc. The results showed that there were seed dormancy and different dormancy reasons in fresh *Duchesnea indica*. But, seed dormancy could be broken in combination condition of heat and NaOH and illumination and so on. The germination percentage was over 90%. The reason of seed dormancy needed to be deeply researched.

Key words: fresh *Duchesnea indica* seeds; breaking dormancy; seed dormancy; germination percentage