

DOI:10.11937/bfyy.201517036

不同处理对祖师麻基源植物黄瑞香种子萌发特性的影响

闫芳¹, 王勤礼¹, 毛著鸿², 张亚娟¹

(1. 河西学院 河西生态与绿洲农业研究院, 甘肃 张掖 734000; 2. 甘肃泰康制药有限责任公司, 甘肃 武威 733000)

摘要:以黄瑞香种子为试材,通过对黄瑞香种子形态和萌发特性的研究,寻找打破种子休眠、提高种子萌发率的适宜条件。观察种子外部形态,对黄瑞香种子千粒质量、饱满度、含水量、生活力和吸水率等多项指标进行测定,对黄瑞香种子分别进行化学物质处理、低温层积和热水处理,分析不同层积时间、不同质量浓度化学物质、不同萌发介质处理对种子萌发率的影响。结果表明:黄瑞香种子含水量为 7.12%,带外种皮的种子吸水率为 33.4%,去除外种皮的种子吸水率为 60.3%;化学物质处理和热水处理不能完全打破黄瑞香种子休眠;化学物质结合低温层积处理 70 d 种子萌发率为 64.93%;平纸床和皱纸床介质上的发芽率分别为 65.8%和 53.2%。种皮不是限制种子萌发的主要因素,用 200 mg/L GA₃ 和 25 mg/L 6-BA 混合溶液浸种 10 h 后结合 70 d 低温层积处理可显著提高种子萌发率,种子萌发最佳发芽介质为平纸床。

关键词:祖师麻;种皮;吸水率;萌发率

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)17-0136-05

黄瑞香(*Daphne giraldii* Nitsche.)属瑞香科瑞香属灌木,其根皮和茎皮为民间治疗风湿和止痛的常用中药

第一作者简介:闫芳(1980-),女,陕西宝鸡人,硕士,副教授,现主要从事药用植物栽培等研究工作。E-mail:lgod_forever@163.com.

责任作者:王勤礼(1966-),男,甘肃永昌人,硕士,教授,现主要从事蔬菜育种及中草药栽培教学与科研工作。E-mail:wangqinli66@163.com.

基金项目:甘肃省自然科学基金资助项目(1308RJZG156);河西学院 2013 年度河西学院科研创新与应用校长基金资助项目。

收稿日期:2015-05-25

祖师麻。经科学验证与临床试验,其味辛、苦,性温,具有止痛散瘀、风湿痹痛之功效,主用于治疗抗肿瘤活性、抗溶血活性、牙痛、跌打损伤、风湿关节痛、肝区痛等诸多痛症^[1-2]。黄瑞香主要分布在甘肃、陕西、青海、宁夏、四川等海拔 2 000 m 的山坡灌丛、林缘、沟谷地带^[3]。黄瑞香的野生资源较少,人工栽培技术尚未成熟。目前对黄瑞香的研究多集中在其茎皮的化学成分和活性成分^[4-7]等方面研究,但有关黄瑞香生物学特性及萌发条件的研究和报道极少。黄瑞香种子的外种皮木质化,种皮的透水性和透气性较差,故其种子休眠时间长、发芽率低,很难满足大面积人工栽培种苗的需求。该试验以

Abstract: *Lepista nuda* from Zhaotong, Yunnan Province was used as the research object, its ITS sequence and single nucleotide polymorphism (SNP) were analyzed. The results showed that: combined with morphological and molecular identification, the collected wild mushrooms were confirmed as *Lepista nuda*; 66 strains *L. nuda*'s ITS sequence length was 666—671 bp, ITS1: 241—244 bp, 5.8S: 155 bp, ITS2: 267—275 bp; G+C content was 41.5%—42.4%; the average genetic distance of all samples was 0.003 0. By sequence alignment, seven SNPs loci were screened out; three singleton variable sites, four parsimony informative sites; transition and transversion ratio was 0.672. The nucleic acid polymorphisms index *Pi* of the population was 0.002 91. Each site nucleotide polymorphisms index *Eta* was 0.002 36. Neighbor (neighbour-joining, NJ) phylogenetic tree was constructed. Bootstrap support rate was low, which indicated that genetic distance of each strain in the population was very close and their genetic diversity was very low. In summary, the genetic diversity of the wild *Lepista nuda* population from Zhaotong was very low so that its protection should be strengthened.

Keywords: *Lepista nuda*; internal transcribed spacers (ITS); single nucleotide polymorphism (SNPs); genetic diversity

祁连山野生祖师麻原植物黄瑞香为试材,研究其种子生物学特性并采取不同的种子处理方法,旨在找到打破黄瑞香种子休眠、提高种子发芽率的有效方法,以期黄瑞香种子规范化人工栽培提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料黄瑞香(*Daphne giraldii* Nitsche.)种子于2013年8月采自海拔2 500~2 600 m的甘肃省武威市天祝县祁连乡布尔草原,经河西学院王勤礼教授鉴定为瑞香科瑞香属黄瑞香的干燥成熟种子。

1.2 试验方法

1.2.1 种子外部形态测定 随机选取饱满干燥的黄瑞香种子400粒,平均分成4组,每组100粒。将每组种子分别按长、宽度方向直线排列,测定每粒种子的长度和宽度,最后取4组的平均值,重复3次。

1.2.2 种子千粒质量的测定、饱满度测定 采用百粒重法,从试验样品中随机数取8个重复,每个重复取种子100粒,用千分之一的电子天平称重,计算其平均值后换算成千粒重。随机取100粒种子,用解剖刀将种子沿纵轴剖开,统计有完整胚的种子占总试验种子数的百分比,求出种子饱满度,重复4次。

1.2.3 种子含水量测定 先将100粒饱满干燥的黄瑞香种子用千分之一的电子天平称质量,然后放入100℃烘箱内烘12 h,取出后在干燥器内冷却至室温后进行称质量。前后2次称量的差值与未烘干前的比值即为含水量。即含水量(%)=($M_2 - M_3$)/($M_2 - M_1$)×100, M_1 为最后一次恒重时称量瓶的质量, M_2 为未进行烘干前称量瓶加种子的质量, M_3 为烘干后称量瓶加种子的质量,重复3次^[8]。

1.2.4 种子吸水率的测定 在试验样品中随机数取黄瑞香种子50 g,放入500 mL的烧杯中,加入200 mL蒸馏水浸泡种子25℃进行吸胀。每隔2 h分别将种子取出,用吸水纸吸干其表面的水后用千分之一的电子天平称重、记录,然后再放回烧杯中继续吸水,重复操作直至种子吸水至恒重,3次重复。种子重量恒重后以时间为横坐标,吸水率为纵坐标,绘制吸水曲线。吸水率(%)=(吸水重量/种子干量)×100。

1.2.5 种子生活力测定 采用氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法测定黄瑞香种子生活力。随机数取100粒黄瑞香种子,首先将种子在常温下浸种24 h后放入浓度为0.5%的TTC溶液中,于45℃恒温箱内染色,6 h后取出种子,然后剥取种胚用蒸馏水冲洗干净,观察染色反应^[9],3次重复。有生活力的种子胚会被染成红色,无生活力的种子则不会被染色。统计被染色的胚并根据胚染色情况测定其生活力。

1.2.6 不同预处理对黄瑞香种子萌发的影响 1)对照(CK):将100粒种子消毒后放于铺有双层滤纸的培养皿中,加蒸馏水置于25℃的恒温培养箱内进行萌发试验,重复3次,每天定时统计萌发数,截至第10天,发芽过程中每天统计发芽数,种子的萌发以黄瑞香种子的胚根破壳而出为标志。发芽率(%)=(正常发芽种子粒数/供检种子总粒数)×100。2)GA₃及6-BA溶液浸种处理:将种子破除种皮后,分别在200 mg/L GA₃、25 mg/L 6-BA、200 mg/L GA₃+25 mg/L 6-BA溶液中浸泡10 h,按对照中的方法进行萌发试验。3)化学物质结合低温层积处理:将种子在200 mg/L GA₃和25 mg/L的6-BA的混合溶液中浸泡10 h后与湿润的灭菌水洗沙按体积3:1混匀,装入经消毒后的发芽盒中,放在温度为5℃的条件下,分别贮藏30、50、70、90 d后,用蒸馏水洗干净,按对照中的方法进行萌发试验。4)热水处理:将种子分别用20、40℃热水浸泡50 min,60、80℃热水浸泡至自然冷却,100℃浸泡1 min后按对照中的方法进行萌发试验。

1.2.7 不同浸种时间和发芽床对萌发率的影响 将供试种子和发芽皿用高锰酸钾消毒20 min后用蒸馏水冲洗干净,将种子置于200 mg/L GA₃和25 mg/L 6-BA混合溶液中分别浸泡0、5、10、15、20 h后再经层积处理,分别采用平纸床、皱纸床、蛭石和河沙4种不同的发芽床,每个培养皿50粒种子,重复3次,每天定时统计萌发数,截至第10天。

1.3 数据分析

利用DPS 6.0软件进行方差分析,运用Duncan's检验法进行多重比较。利用Origin 8.5做图。

2 结果与分析

2.1 种子外部形态特征、千粒质量、饱满度、含水量

经过外部形态观察,黄瑞香种子形状呈球形,表皮光亮、平滑,深褐色,种皮坚硬。种子大小、千粒质量、饱满度和含水量见表1。

表1 黄瑞香种子的相关形态指标

Table 1 Physiological indexes of *Daphne giraldii*

组别 Group	近直径 Approximate diameter/mm	饱满度 Plumpness /%	含水量 Water content /%	千粒质量 Thousand seed mass/g
第一组 The first group	5.71±0.04	92.35±0.10	6.92±0.07	81.58±0.21
第二组 The second group	5.65±0.07	91.65±0.07	7.01±0.13	82.65±0.17
第三组 The three group	5.70±0.06	92.07±0.08	6.88±0.06	81.84±0.34
平均值 Average	5.68±0.03	92.02±0.12	7.12±0.14	82.02±0.21

2.2 种子吸水特性

由图1可以看出,是否去掉外种皮对黄瑞香种子的吸水特性有明显的影响,18 h内带外种皮的黄瑞香种子吸水率最高仅为33.4%,2~15 h内吸水速率较快,但在15 h以后趋于稳定。去掉外种皮的黄瑞香种子的吸水

率最高为 60.3%, 其在 2~24 h 内吸水速率最快, 24 h 后趋于稳定。由此可知, 种皮是限制黄瑞香种子吸水的机械障碍因素之一, 去掉其种皮可以缓解这种障碍。

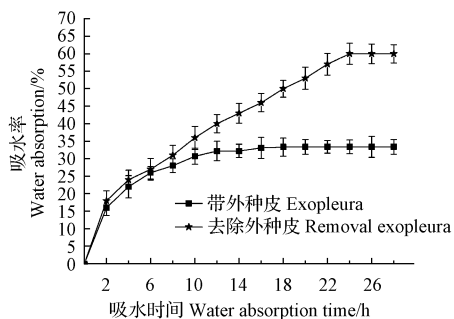


图 1 黄瑞香种子吸水率曲线

Fig. 1 Water absorption rate curve of *Daphne giraldii*

2.3 种子生活力的测定结果

TTC 染色法在测定种子生活力方面应用广泛, 该方法快速、简便、准确, 不受休眠状态的限制^[10]。由表 2 可知, 胚呈红色的种子皆有生活力, 并具发芽潜力, 占 84.6%。9.3% 为丧失生活力的无色胚种子, 空粒种子指无胚或胚已干瘦皱缩, 占 6%。即当年采收的黄瑞香种子中有 84.6% 具有活力。

表 2 黄瑞香种子生活力的
四氮唑(TTC)染色法检验

Table 2 Vigor of *Daphne giraldii* seeds tested by TTC

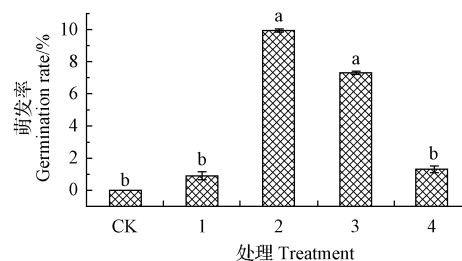
组别 Group	有生活力种子 Viable seed/粒	无生活力种子 Debility seed/粒	空种子 Deaf seed/粒
第一组 The first group	85	9	6
第二组 The second group	87	8	5
第三组 The three group	82	11	7
平均百分率 Mean percentage/%	84.6	9.3	6.0

2.4 不同预处理对种子萌发的影响

由图 2 可知, 不同浓度的 GA_3 和 6-BA 以及它们的组合处理后的黄瑞香种子的萌发率与对照相比都有不同程度的提高。其中, 200 mg/L GA_3 + 25 mg/L 6-BA 溶液处理后种子萌发率最高, 为 9.94%, 其次是 200 mg/L GA_3 溶液处理后的萌发率, 其二者之间差异不显著。25 mg/L 6-BA 溶液处理和清水处理后的萌发率都很低, 其二者之间差异不显著, 且与对照之间也不显著, 对照组的黄瑞香种子根本不萌发。由此可以看出, 虽然 200 mg/L GA_3 + 25 mg/L 6-BA 溶液处理和 200 mg/L GA_3 溶液处理后的种子和其它所有处理间达到了显著差异, 但是萌发率还是很低, 因此黄瑞香种子存在休眠现象, 并且用不同浓度的化学物质处理难以打破。

2.5 化学物质结合层积处理对种子萌发的影响

由图 3 可以看出, 经 200 mg/L GA_3 + 25 mg/L 6-BA 溶液浸泡种子 10 h 后, 当层积温度为 5℃, 时间为



注: 处理 1, 清水; 处理 2, 200 mg/L GA_3 + 25 mg/L 6-BA 溶液; 处理 3, 200 mg/L GA_3 溶液; 处理 4, 25 mg/L 6-BA 溶液。

Note: Treatment 1, clear water; treatment 2, the solution of 200 mg/L GA_3 + 25 mg/L 6-BA; treatment 3, the solution of 200 mg/L GA_3 ; treatment 4, the solution of 6-BA.

图 2 不同质量浓度的化学物质对
黄瑞香种子萌发率的影响

Fig. 2 Effect of different chemical materials on
Daphne giraldii seeds germination

70 d 时, 瑞香种子发芽率最高为 64.93%。层积时间为 30 d 时的最低发芽率 18.37%, 相比前者黄瑞香种子发芽率下降了 46.56%, 差异显著; 层积时间为 50 d 和 90 d 的黄瑞香种子发芽率分别为 41.20% 和 50.68%, 与对照相比, 均达到差异显著水平, 其它处理组合间也均达到差异显著水平。化学物质结合低温层积能有效打破黄瑞香种子的休眠, 随着低温层积时间的延长发芽率呈升高趋势, 但层积时间超过 70 d 后种子存在霉变现象严重, 因此萌发率有降低的趋势。

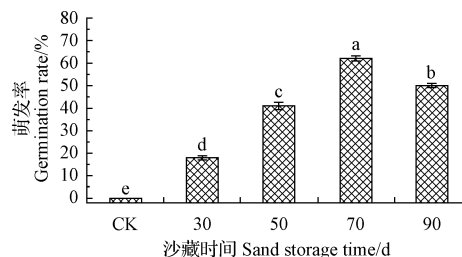


图 3 化学物质结合层积处理对黄瑞香种子的萌发率的影响

Fig. 3 Effect of chemical matter treatment combined with stratification on *Daphne giraldii* seeds germination

2.6 不同温度热水处理对种子萌发的影响

图 4 表明, 不同温度的热水浸泡处理对黄瑞香种子萌发有一定的作用, 种子的萌发率比对照增加了 8% 左右, 但增长幅度较小。无论是用 20~80℃ 的热水浸种 50 min, 还是用 100℃ 的热水浸种 1 min, 均能使黄瑞香种子的外种皮软化, 因此有部分的萌发率。说明黄瑞香种子存在一定程度的硬实性, 但用热水浸种破除其硬实性并不能打破其种子休眠。

2.7 不同浸种时间和发芽床对种子萌发的影响

由图 5 可知, 黄瑞香种子在经过不同时间的 200 mg/L GA_3 和 25 mg/L 的 6-BA 混合溶液浸种后, 经过 70 d 的

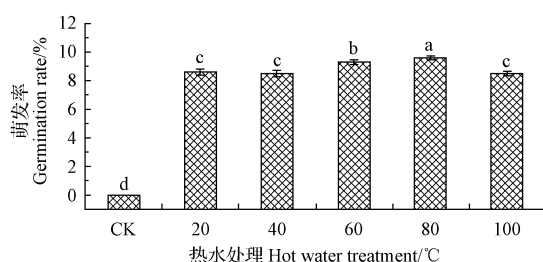


图4 不同温度热水处理下黄瑞香种子的萌发率

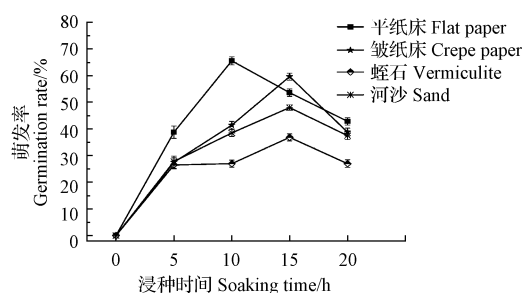
Fig. 4 Seed germination of *Daphne giraldii* seed in different hot water treatments

图5 不同发芽床和浸种时间对黄瑞香种子萌发率的影响

Fig. 5 Germination rate of seeds under different matrixes and soaking time of *Daphne giraldii* seeds

层积处理,萌发率与对照(不浸种)有不同程度的变化。随着浸种时间的延长,几个处理均出现先升高后降低的趋势,萌发率最高为浸种 10 h 或 15 h 的种子。在不同的发芽床上的萌发率不同,其中在平纸床上的萌发率最高为 65.8%,其次为皱纸床和河沙,最高萌发率分别为 53.2% 和 42.7%,蛭石中的萌发率最低为 38.8%。激素溶液浸种一定时间对黄瑞香种子的萌发率有一定的促进作用,但时间过长会有一定的抑制作用。可以看出较为合适的发芽床介质为平纸床,这主要是由于其透气保湿性能好,可以提供较好的发芽环境。

3 讨论与结论

中药材祖师麻主要来源于瑞香科陕甘瑞香(*D. tangutica* Maxim.)、黄瑞香(*Daphne giraldii* Nitsche.)、凹叶瑞香(*D. retusa* Hemsl.)^[11-12],其中黄瑞香(*Daphne giraldii* Nitsche.)是药用价值较高最主要的来源之一^[13]。祖师麻原植物黄瑞香种子形状呈球形,种皮颜色深褐色,种子千粒重 81.68 g,含水量 6.9%,粒径 0.567~0.571 cm,饱满度 91.65%,当年采收的种子生活力为 84.6%,说明黄瑞香种子具有较高的发芽潜力。但该试验部分处理结果表明,黄瑞香种子的发芽率较低,故其发芽率低的原因不是因为生活力低所致,可能受种子本身的休眠特性决定。有的植物种子种皮结构致密,栅栏组织发达,表皮的角质层厚,会影响种皮的透水和透气性,可能引起种子的休眠^[14-15]。黄瑞香种子的种皮

坚韧,其萌发率低的主要原因之一可能就与其种皮特性有关,坚韧的种皮限制了水分的渗入和气体的交换并阻碍了氧气的进入和二氧化碳的排出,呼吸受到抑制,引起种子休眠从而严重影响种子的吸胀萌发。从黄瑞香种子的吸水曲线可以看出,带外种皮的黄瑞香种子透水性差,吸水率仅为 33.4%,而去除外种皮的黄瑞香种子的吸水率最高为 60.3%。吸水率大小与种子萌发关系密切^[16],过低可能会导致种子萌发率较低或萌发较慢。因此在播种繁殖黄瑞香时,应首先破除其种子坚硬的外种皮,消除对种胚存在的机械束缚作用。

从发芽试验结果来看,机械破除种皮后,在不同浓度 GA₃ 和 6-BA 的作用下虽和 CK 间差异显著,但萌发率仍然很低,不超过 20%。CARRICK 等^[17]研究发现外源激素浸种能促进植物种子内部的生理生化变化,可以部分解除休眠,但对于黄瑞香而言,单用外源激素浸种处理并不能彻底打破黄瑞香种子的生理休眠。不同温度的热水处理也有着相似的试验结果,热水浸种处理能够破坏植物种皮结构,加快种子的吸水速度,同时也具有一定的灭菌作用,但黄瑞香种子经热水处理后萌发率没有超 10%。种皮特征并不是导致黄瑞香种子休眠的主要因素,该种子还存在生理休眠。种子的生理休眠和萌发主要取决于种子内在植物激素的调节,其中赤霉素和乙烯起促进作用,脱落酸起抑制作用,而细胞分裂素则起解抑制作用。种子生理休眠的解除主要在于这几种激素的相对浓度。一些如光、冷、变温等环境因子都可能改变这些激素之间的平衡刺激或促进种子的萌发^[18]。用激素与低温层积相结合的处理方法在解除种子休眠,尤其是在打破植物种子休眠加快苗木生产中发挥着重要作用^[19]。该研究发现,经 GA₃ 和 6-BA 混合溶液浸泡处理 10 h、在 5℃ 的低温条件下沙藏种子 70 d 后,其萌发率达到了 61.93%,有效提高了黄瑞香种子的萌发率。黄瑞香种子的生理休眠可能是由于内源性赤霉素含量未积累至有效的生理浓度及一些抑制物质未消除所致,如果使用适量浓度的外源赤霉素和细胞分裂素进行浸种处理并结合低温层积,可能会打破几种激素之间彼此制约的平衡,可缩短休眠期,促进种子的萌发。另外低温层积处理会使种皮内含物或种皮物理结构发生变化,使种皮透水透气性增加从而提高了种子的发芽率^[20]。

以前期试验得出的最高萌发率条件为基础,探讨黄瑞香种子最适合的浸种时间和萌发介质。表明浸种 10 h 萌发率最高,平纸床萌发率最高,其次是皱纸床。过长时间的激素混合溶液浸种可能会抑制种子的萌发。纸床能保证种子发芽所需的充足的水分和氧气条件,纸床的保水性较好,并且容易通气。蛭石和河沙的萌发率相对较低,其原因可能是因为此类发芽床不便于气体的交

换,保持充足水分的性能也较差。因此黄瑞香种子的萌发介质最好为平纸床。

参考文献

- [1] 赵洁,晋小军,张红军.黄瑞香研究进展[J].中国野生植物资源,2012,31(6):12-15.
- [2] 康阿龙,李伟,孙成荣,等.祖师麻的化学成分及制剂学研究进展[J].西北药学杂志,2011,26(6):479-482.
- [3] 张勇,刘贤德,李鹏,等.甘肃河西地区微管植物检索表[M].兰州:兰州大学出版社,2001.
- [4] 王明时,玛莱娜·戈加泽.祖师麻化学成分的研究(第二报)[J].中草药,1980,11(2):49-54.
- [5] LI S H, WU L J, GAO Y H, et al. A new dicoumarinoid glycoside from *Daphne giraldii* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7(6): 839-842.
- [6] 王成瑞,李士敏,周炳南,等.黄瑞香生物活性二萜的研究[J].化学学报,1987(10):993-996.
- [7] 周光雄,杨永春,石建功.祖师麻活性化学成分研究[J].中国中药杂志,2006,31(7):555-557.
- [8] 李娜,袁媛.不同产地牛膝种子生活力及形态的比较研究[J].中国中药杂志,2008,33(9):1002.
- [9] 闫芳,毛著鸿,王勤礼,等.黄瑞香种子生活力测定技术研究[J].草地学报,2014,22(1):145-149.
- [10] 谢宗强,李庆梅.濒危植物银杉种子特性的研究[J].植物生态学报,2000,24(1):82.
- [11] 刘延泽,冀春茹,冯卫生.瑞香科植物的化学成分与药理作用[J].中草药,1987,18(2):32-41.
- [12] 李书慧,吴立军,殷红英.祖师麻化学和药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2000,27(6):401-403.
- [13] 张薇,苏娟,扈晓佳,等.中药祖师麻的三种基源植物的化学及药理活性[J].中国医药工业杂志,2007,38(3):233-235.
- [14] 王九龄,杨建平.紫椴树种子休眠原因的初步研究[J].北京林学院学报,1981,18(3):20-25.
- [15] GREIPSSON S. Effects of stratification and GA₃ on seed germination of a sand stabilizing grass *Leymus arenarius* used in reclamation[J]. Seed Science and Technology, 2001, 29(1): 1-10.
- [16] 郝建平,徐笑飞,杨东方,等.北柴胡快速繁殖及种子萌发条件研究[J].中草药,2008,39(5):752-756.
- [17] CARRICK K M, PLYLER D B. Interaction of fusicoccin and abscisic acid in breaking and restoring seed dormancy in *Spartina alterniflora* [J]. ASB Bulletin (Association of Southeastern Biologists), 1994, 41: 82 (Abstract).
- [18] 付婷婷,程红焱,宋松泉.种子休眠的研究进展[J].植物学报,2009,44(5):629.
- [19] 陈疏影,尹品训,杨艳琼,等.变温层积对解除滇重楼种子休眠及其内源激素变化的研究[J].中草药,2011,42(4):793-795.
- [20] 马天晓,王艳梅,李世荣,等.硫酸和低温处理对酸角种子发芽率的影响[J].河南农业大学学报,2012,46(2):152-155.

Effect on Germination Characteristics With Different Treatments for Seeds of *Daphne giraldii*

YAN Fang¹, WANG Qinli¹, MAO Zhuhong², ZHANG Yajuan¹

(1. Hexi Ecological and Oasis Agricultural Research Institute, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000; 2. Gansu Taikang Pharmaceutical Company, Wuwei, Gansu 733000)

Abstract: Taking *Daphne giraldii* seeds as test material, to break the dormancy and improve the germination rate of *Daphne giraldii* seeds, the shapes and germination characteristics of *Daphne giraldii* seeds were studied. Several physiological indexes like the weight per thousand seeds, plumpness, content of moisture, seed viability, and the rate of water absorption were measured. The germination rate of *Daphne giraldii* seeds was determined under different treatments of chemical matter, stratification, soaking in hot water, and different matrixes. The results showed that the content of moisture of *Daphne giraldii* seeds was 7.12%, the rate of water absorption with testa was 33.4%, without testa was 60.3%. Chemical matter treatment and soaking in hot water could not break seeds dormancy completely. The germination rate were 61.93% under chemical matter treatment combined with stratification treatment. The germination rate on flat paper and crepe paper was 65.8% and 53.2%, respectively. Testa was not the main limiting factor of the germination of *Daphne giraldii* seeds. With the seeds soaked in 200 mg/L GA₃ and 25 mg/L 6-BA solutions for 10 hours combined with stratification treatment at -5℃ for 70 days can improve the germination rate of the seeds obviously, the most appropriate matrix was flate paper.

Keywords: *Daphne giraldii* Nitsche.; testa; absorption rate; germination rate