

玉铃花种子休眠原因及其内源激素含量变化

司倩倩¹, 臧德奎¹, 刘丹², 褚泽龙³

(1. 山东农业大学 林学院, 山东 泰安 271018; 2. 山东省林木种质资源中心, 山东 济南 250014; 3. 昌邑市纪委, 山东 昌邑 261300)

摘 要:以玉铃花种子为试材,从种皮透水性、种子不同部位的浸提液萌发抑制测定等方面探讨了种子休眠原因,并用低温层积处理打破种子休眠,测定层积过程中4种内源激素含量变化,研究4种内源激素对种子萌发的影响。结果表明:玉铃花种皮存在一定的透水性障碍和机械束缚;玉铃花种皮及胚乳(胚)中均含有抑制种子萌发的物质,且抑制强度为种皮<胚乳(胚),低温层积可有效打破种子休眠;随着层积时间延长,GA含量明显上升,ABA含量急剧下降,IAA/ABA、ZR/ABA及GA/ABA的比值升高可促进种子萌发。

关键词:玉铃花种子;休眠原因;低温层积;内源激素

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)06-0091-05

玉铃花(*Styrax obassia* Sieb. et Zucc.)属安息香科安息香属乔木或灌木,是该属植物中在我国分布最靠北的。玉铃花树形优美,枝叶扶疏,是一种优良的园林观赏树木,可作为庭园和城市绿化树种,具有广阔的园林应用前景^[1];此外,玉铃花的花、果实、木材均有重要的经济价值^[2]。但玉铃花存在休眠现象,直接播种很难发芽,使得苗木供应稀少,难以满足市场需求。近些年对玉铃花播种^[3]、扦插^[1]、组织培养^[2]等繁殖技术的研究较多,而对于玉铃花休眠原因尚鲜见报道。现以玉铃花种子为试材,研究了玉铃花种子休眠原因及层积过程中4种内源激素的变化,以期优化玉铃花种子繁殖技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉铃花种子于2014年9月采集于河南伏牛山海拔700 m的山坡处,在成年玉铃花树上采集果实,经晾晒得到种子,去杂备用。种子千粒质量68.388 g,生活力85%。供试菜种子为市售。

第一作者简介:司倩倩(1991-),女,硕士研究生,研究方向为园林植物种质资源及遗传育种。E-mail: siqianqian12_4@163.com.

责任作者:臧德奎(1966-),男,博士,教授,现主要从事植物分类和种质资源等研究工作。E-mail: zangdk@sda.u.edu.cn.

基金项目:山东省农业良种工程重大资助项目(鲁农良字[2010]6号)。

收稿日期:2016-09-23

1.2 试验方法

1.2.1 种子透水性测定 采用称量法,分别随机抽取完整种子、破皮种子(将种皮敲出一条裂缝)各50粒,称重后放在25℃的恒温培养箱中,用去离子水浸泡种子。每隔2 h取出种子(12 h后,每12 h取1次),用吸水纸吸干种子表面的水分,在1/1 000电子天平上称量,直至种子质量不再变化为止。每处理设置3次重复,计算其吸水率。吸水率(%)=(吸水后质量(g)-吸水前质量(g))/吸水前质量(g)×100。

1.2.2 萌发抑制物质测定 参考王小平等^[4]的提取方法。准确称取玉铃花种皮、胚乳(胚)各2.5 g,用80%甲醇研磨,定容至50 mL,于4℃培养箱中振荡提取48 h,过滤,重复1次。35℃减压浓缩至水相,去离子水定容至40 mL,分别稀释为原浓度的20%、40%、60%、80%、100%。在培养皿中加入各浓度提取液5 mL,各放50粒提前浸泡2 h的白菜种子,在光照培养箱中进行发芽试验,以同体积蒸馏水为对照,设置3次重复,48 h后记录白菜种子的发芽率(以露出子叶为发芽标准),72 h测定根长和苗高。

1.2.3 层积催芽 采用低温层积方法:层积前经0.3%高锰酸钾消毒30 min后,用30~40℃的温水浸泡24 h,然后将沙子与种子以3:1的比例混匀(层积所用沙含水量保持在60%左右),埋藏在背风向阳处,埋藏深度为50 cm。定期测定发芽率。

1.2.4 内源激素测定 选取不同层积时间的胚乳(胚)1~2 g,加适量80%冰甲醇研碎,转至150 mL三角瓶,再加20 mL冰甲醇,4℃超声波内震荡2 h。

过滤,残渣再加 20 mL 80% 冰甲醇,4 ℃ 过夜,再过滤,合并滤液,取 10 mL 滤液过 Seppak C18 小柱,弃去滤出液,用 2 mL 乙腈冲洗 SappakC18 小柱,收集洗出液,经过 0.45 μm 滤膜过滤后,清液上 HPLC,测定 GA₃、ABA、ZR 和 IAA 4 种内源激素含量。

2 结果与分析

2.1 不同处理对种子透水性的影响

由图 1 可知,完整种子和破壳种子吸水变化趋势大致相同,吸水速率先快后慢,逐渐趋于平缓,直至达到饱和状态。但二者达到饱和状态所用时间有所不同,在吸水阶段,破壳种子的吸水率始终大于完整种子。完整种子 48 h 前吸水较快,吸水率达到 43.39%,约占总吸水量的 89.11%,48 h 后吸水速度开始减慢,直至 108 h 吸水达到饱和。与完整种子不同,破壳种子在 24 h 前为快速吸水期,呈直线上升,24 h 时吸水率为 43.55%,约占总吸水量的 90.47%,24 h 后吸水速度减慢,到 72 h 即达到吸水饱和状态。至吸水饱和状态时,完整种子吸水率为 48.67%,破壳种子为 48.14%,方差分析表明,二者吸水率差异不显著($P=0.435$)。说明玉铃花种子的种皮存在一定的吸水透性,对种子萌发有一定的阻碍作用,但不是种子休眠的关键因素。

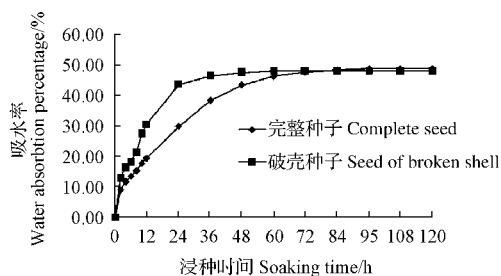


图 1 玉铃花种子吸水曲线

Fig. 1 Curve of water absorption of *Styra obassia*

Sieb. et Zucc. seeds

2.2 内源抑制物对白菜种子发芽的影响

从表 1 可以看出,种皮提取液和胚乳(胚)提取液处理的白菜种子发芽率均小于对照,种皮与胚乳处理的白菜种子发芽率差异极显著($P<0.01$)。且随着提取液浓度增加,发芽率逐渐降低,这说明种皮和胚乳(胚)提取液对白菜种子萌发均有抑制作用,且浓度越大,抑制作用越强。在相同浓度下,胚乳(胚)提取液处理的白菜种子发芽率均小于种皮浸提液,表明胚乳(胚)中抑制物质的含量高于种皮;胚根长度变化表明,种皮和胚乳(胚)中的抑制物对发芽后期胚根的生长也起到抑制作用。玉铃花种子中内源抑制物的存在是导致种子休眠和幼苗生长缓慢的原因。

表 1 玉铃花种子甲醇浸提液对白菜种子发芽的影响

Table 1 Effect of methanol-extract of *Styra obassia* Sieb. et Zucc. seeds on the germination percentage of *B. campestris*

提取液 Extraction solvent	浓度 Concentration /(g · mL ⁻¹)	发芽率 Germination percentage/%		胚根长 Length of radicle/cm	
		种皮 Seed capsule	胚乳(胚) Endosperm(Embryos)	种皮 Seed capsule	胚乳(胚) Endosperm(Embryos)
对照 Control	—	92.67±0.02Aa	92.67±0.02Aa	1.430±0.02Aa	1.430±0.02Aa
	0.02	85.67±0.03Aab	65.67±0.06Bb	1.383±0.10Aa	1.265±0.10Bb
	0.04	82.67±0.03Aab	12.67±0.03Cc	1.377±0.03ABa	0.551±0.10Cc
	0.06	52.00±0.17Bbc	4.00±0.04Dd	1.366±0.03ABa	0.175±0.02Dd
	0.08	42.00±0.20Bc	0.00±0.00Dd	1.257±0.07BCab	0.000±0.00Ee
80% 甲醇 Carbinol	0.10	30.00±0.21Bc	0.00±0.00Dd	1.192±0.09Cb	0.000±0.00Ee
	—	10.949	445.588	5.743	368.005
F	—	0.00*	0.00*	0.006	0.00*

2.3 层积催芽对种子发芽率的影响

从表 2 可以看出,层积前 60 d 种子未出现发芽现象,层积 90 d 后,少数种子开始萌发,此时种子发芽率为 7.97%;随着层积时间延长,发芽的种子逐渐增加,层积 120 d 和 150 d 后发芽率分别达到 34.20% 和 58.48%。在层积过程中种子含水量不断增加,说明种子萌发不但需要一定的层积时间,还对含水量有一定要求,种子只有达到或接近饱和含水量时,种子才开始逐渐萌发。

表 2 层积催芽与种子萌发的关系

Table 2 Relation of stratification and seed germination in

Styra obassia Sieb. et Zucc.

层积时间 Stratification time	含水量 Water content	样品数量 Sample number	发芽率 Germination percentage
/d	/%	/粒	/%
0	8.68±0.43Ee	1 000	0.00±0.00Dd
30	25.67±0.65Dd	1 000	0.00±0.00Dd
60	29.51±0.76Cc	1 000	0.00±0.00Dd
90	30.26±0.39Cbc	1 000	7.97±0.91Cc
120	31.87±0.99Bb	1 000	34.20±2.14Bb
150	33.55±0.63Aa	1 000	58.48±1.67Aa

2.4 层积过程中内源激素 ABA、GA、ZR、IAA 含量变化

层积催芽能使种子合成生长激素,降解抑制激素。由图 2A 可以看出,随着层积时间延长,ABA 含量呈不断下降的趋势,层积 0~90 d ABA 含量下降不显著,层积 90 d 和未层积时无明显差异($P>0.05$),层积 90~120 d,下降速度加快,120~150 d,ABA 含量急速下降,与未层积时形成极显著差异($P<0.01$),而 90 d 以后种子开始萌发,说明 ABA 能抑制种子萌发,ABA 含量减小,抑制作用减弱,种子开始萌发。

从图 2B 可以看出,玉铃花种子中 GA 含量不断增加,层积 0~30 d GA 含量增加显著($P<0.05$),层积 30 d GA 含量为 $20.53 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,是未层积时的

3.5 倍,此后种子内的 GA 含量一直维持在一个较高水平,层积 90~150 d 是 GA 的又一个快速增长期,高含量的 GA 直接诱导了种子萌发。

玉铃花种子中 IAA 含量呈不断增加的趋势,层积 0~30 d IAA 含量明显增加,层积 30~120 d IAA 含量变化不大,在 $43 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 上下波动,与层积 30 d 时基本持平,120~150 d 时含量急剧上升,达到层积过程中的最大值(图 2C)。

ZR 在玉铃花种子的含量很小,在低温层积过程中波动比较小,层积 30 d, ZR 含量较未层积时有所下降,之后 ZR 含量不断增大,150 d 时 ZR 含量达到层积过程中的最大值。种子中 ZR 变化趋势同种子萌发呈正相关,说明在层积过程中 ZR 对种子萌发有促进作用(图 2D)。

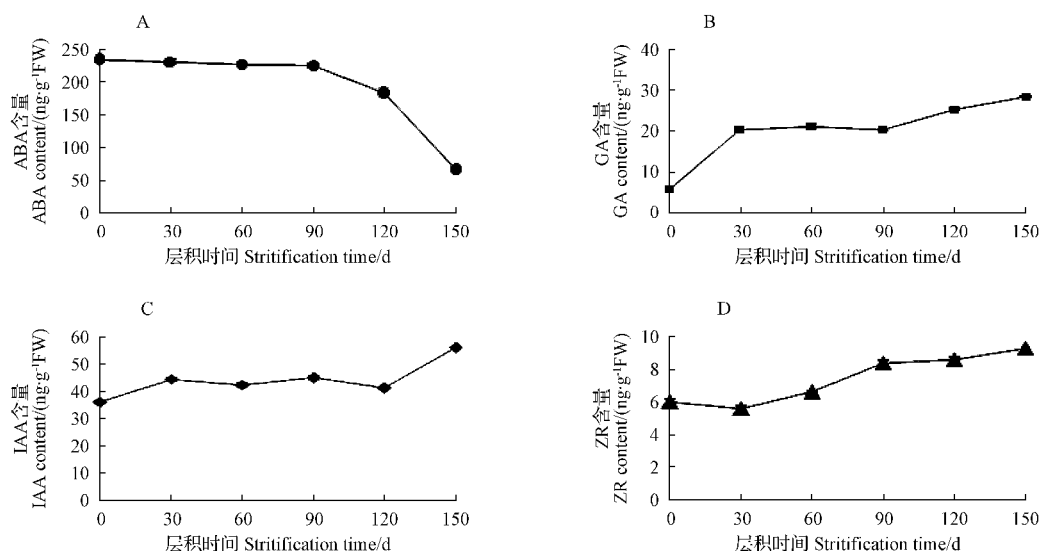


图 2 种子内源激素含量变化

Fig. 2 Changes of endogenous hormone content in *Styra obassia* Sieb. et Zucc. seeds

2.5 各激素含量之间比值的变化

从图 3 可以看出,GA 与 ABA、ZR 与 ABA 和 IAA 与 ABA 含量的比值变化基本相似,随着层积时间延长都呈上升趋势。GA 与 ABA 的比值在层积 0~30 d 增大,层积 30~90 d 基本保持不变,120 d 之后迅速增大,120~150 d 的增长达到极显著水平。ZR 与 ABA 和 IAA 与 ABA 的比值在层积 120 d 之前无显著增加,120 d 后快速增加。GA、ZR、IAA 与 ABA 的比值与种子发芽率均呈正相关,表明 GA、ZR、IAA 在种子萌发过程中均起到促进作用。

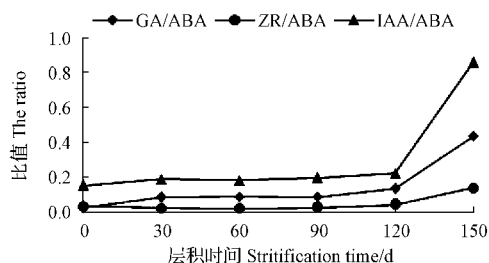


图 3 各激素比值关系

Fig. 3 Ratio of endogenous hormone content in *Styra obassia* Sieb. et Zucc. seeds

3 讨论

3.1 种子休眠原因

前期研究指出种皮障碍是导致种子休眠的原因之一,近年来,有更多研究提出有些种子的种皮存在使种子休眠的机械作用。种皮的物理或化学特性(结构致密、坚硬或具有很厚的蜡质层)会导致种皮透气、透水困难,还可能产生机械阻碍作用^[5]。KENTZER^[6]和 AMEN^[7]指出抑制物质的存在是植物种子休眠的主要原因之一。尚旭岚等^[8]也提出果皮和种皮中含有一些活性较强的内源抑制物质,可能是导致青钱柳种子休眠的主要原因。

该研究结果表明,层积处理时间短(小于 90 d)的种子发芽率为 0,说明种子处于休眠状态。而玉铃花种子种皮骨质,坚硬致密,存在透性障碍和机械束缚,对种子吸水及胚的萌发特别是胚根的伸长和生长起到阻碍作用。玉铃花种子种皮、胚乳(胚)浸提液的生物测定说明玉铃花种子种皮、胚乳(胚)中均含有某些抑制物质,且抑制物质主要存在于胚乳(胚)中,这些抑制物质抑制种子萌发,导致种子休眠。这与刘超等^[9]、曲芬霞等^[10]的研究结果一致。该试验还表明,随着时间延长,种子发芽率明显上升,说明低温层积处理可以有效打破种子休眠。

3.2 4 种激素与种子休眠关系

内源激素可以调控种子休眠和萌发,ABA 和 GA 作为主要的内源激素,成为许多学者的研究对象。ABA 在休眠种子中通常含量较高,是控制种子休眠的主要因素^[11]。GA 参与调控种子发芽、茎生长、开花发育、果实成熟等各阶段的发育过程,可以打破种子休眠,促进萌发^[12]。该研究结果表明,随着层积时间延长,玉铃花种子中 ABA 含量逐渐降低,GA 含量不断增加,在休眠的种子中 ABA 含量最高,而在萌发的种子中 GA 含量相对较高,说明 ABA 是导致种子休眠的主要原因,GA 是种子萌发的主要促进物质,二者呈现拮抗作用,共同调控种子的休眠和萌发,这与吴君等^[13]对白花树的研究结果相一致。IAA 和 ZR 在层积过程中整体上与种子萌发呈正相关关系,说明二者对种子的萌发也有一定的促进作用。

种子的休眠是一个非常复杂的现象,不仅与各激素的绝对含量有关,还取决于促进物质与抑制物质的平衡和消长变化^[14]。有研究指出,GA 和 ABA 的量比是控制种子休眠的关键因素,低温层积使 GA

和 ABA 的比值升高,能够解除种子休眠,是种子萌发的启动性因素^[15]。该研究证明低温层积可以有效打破种子休眠。在层积过程中,ABA 含量减小,GA 增加,GA/ABA 比值也不断增加,低温使 GA 与 ABA 含量之间的平衡被打破,种子开始由休眠转入萌发状态,显然 GA 与 ABA 的比值是解除种子休眠,促进萌发的启动因素。此外,IAA 含量波动较大,ZR 含量小且在层积过程中先减小后增大,但这 2 种激素与 ABA 的含量比基本是增大的,说明 2 种激素对种子休眠解除和萌发也有重要的促进作用。从玉铃花种子 4 种激素含量变化及之间的比值关系可以看出,玉铃花种子的休眠是由多种激素共同调控,且增大生长促进激素和生长抑制激素的比值可以有效打破种子休眠,促进萌发。

参考文献

- [1] 李俊卿,刘孟,王奎玲,等. 玉铃花扦插繁育技术研究[J]. 北方园艺,2008(9):128-130.
- [2] 王奎玲,刘庆超,李俊卿,等. 玉铃花的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2010,46(9):959-960.
- [3] 邹新军,邹念梁,邓践,等. 玉铃花育苗技术[J]. 中国林副特产,2008(1):58-59.
- [4] 王小平,王九龄. 白皮松种子内含物的提取、分离及生物测定[J]. 种子,1998(5):19-22,28.
- [5] 叶常丰,戴心维. 种子学[M]. 北京:中国农业出版社,1994:10-13.
- [6] KENTZER T. Gibberellin-like substance and growth inhibitors in relation to the dormancy and afterripening of ash seeds[J]. Acta Soc Bot Pol,1966,35:575-600.
- [7] AMEN R D. A model of seed dormancy[J]. Bot Rev,1986,34:1-10.
- [8] 尚旭岚,徐锡增,方升佐. 青钱柳种子休眠机制[J]. 林业科学,2011(3):68-74.
- [9] 刘超,伏秦超,罗正敏,等. 肉果秤锤树核果中萌发抑制物质的初步研究[J]. 北方园艺,2013(4):20-24.
- [10] 曲芬霞,姚霞珍. 西藏核桃休眠及萌芽特性研究[J]. 种子,2011,30(3):44-47.
- [11] ABDALLAH A D A, BARHOUMI Z, SMAOUI A, et al. ABA, GA, and nitrate may control seed germination of *Crithmu maritimum* (Apiaceae) under saline conditions[J]. Comptes Rendus Biol,2009,332(8):704-710.
- [12] BEWLEY J D. Seed germination and dormancy[J]. Plant Cell,1997(9):1055-1066.
- [13] 吴君,李因刚,罗修宝,等. 白花树种子处理过程中内源激素动态变化[J]. 江西农业大学学报,2013,35(5):988-992.
- [14] 叶耀辉,张文雪,张寿文,等. 低温沙藏对桃儿七种子破眠及其内源激素变化的影响[J]. 时珍国医国药,2014,25(3):715-717.
- [15] 赵鑫,马小军,凯撒·苏来曼,等. 低温解除阜康阿魏种子休眠和内源激素变化规律的研究[J]. 中草药,2006,37(2):268-270.

十七个玉簪品种在山东烟台的引种表现

张京伟¹, 张英杰¹, 孙纪霞¹, 郭文姣¹, 初美静^{1,2}, 刘学庆¹

(1. 山东省烟台市农业科学研究院, 山东 烟台 265500; 2. 烟台大学 农学院, 山东 烟台 264005)

摘要:以引自北京、威海的 17 个玉簪品种为试材, 研究了这些品种在山东烟台的适应性、物候表现及观赏特性。结果表明: 不同玉簪品种在烟台的生长表现不一。‘夏香’‘皇家标准’‘威严’‘安迪奥琪’‘大父’‘杰妮特’‘金头饰’‘大师’‘晨光’‘蓝天’‘白波边’‘爱勒博克’等 12 个品种生长表现强健, 观赏性状优良, 适合在烟台地区进行栽培和园林应用; ‘金鹰’‘小黄金叶’‘法兰西’‘宽银边’‘圆皱叶’等 5 个品种在烟台地区综合应用价值最低, 不适合进行大规模园林应用。

关键词:玉簪; 引种; 物候观测; 适应性

中图分类号:S 682.1+9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)06-0095-04

玉簪(*Hosta*)是世界重要的花叶共赏的耐阴地被植物, 广泛分布于东亚的温带与亚热带地区^[1]。经过人类长期的栽培与应用, 玉簪已经成为世界销

第一作者简介:张京伟(1983-), 男, 山东文登人, 硕士, 农艺师, 研究方向为花卉栽培与品种选育。E-mail: jingweizhang.000@163.com

责任作者:刘学庆(1969-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为花卉栽培与品种选育。E-mail: lxqflower@163.com

基金项目:山东省良种产业化资助项目。

收稿日期:2016-11-04

量第一的草本花卉^[2]。长期以来, 我国栽培的玉簪种类非常单调, 仅局限于白花玉簪(*Hosta plantaginea*)和紫萼(*Hosta ventricosa*) 2 种国产玉簪^[3]。目前, 我国对玉簪属植物的引种栽培还处于探索阶段。2007 年, 中国林业科学院对玉簪品种进行引种栽培, 并从荷兰引进 86 个玉簪品种进行试验种植^[4]。也有学者对乌鲁木齐和哈尔滨引种当地栽培的玉簪品种进行适应性观察评价, 筛选出适宜栽培的玉簪品种^[5-6]。但山东省对新优玉簪品种引种栽培及相应的园林应用尚鲜见报道。为丰富当地宿根花卉种

Causes of Dormancy and Change of Endogenous Hormone Content in *Styrax obassia* Seeds

SI Qianqian¹, ZANG Dekui¹, LIU Dan², CHU Zelong³

(1. Forestry College, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018; 2. Center for Forest Genetic Resources of Shandong Province, Jinan, Shandong 250014; 3. Changyi City Commission for Discipline Inspection, Changyi, Shandong 261300)

Abstract: *Styrax obassia* seeds were used as material. In this study, seed dormancy reasons were investigated by permeability of testa, and the bioassay of extracts from different parts of seeds were determined. The seeds were treated by cold stratification, and the content of endogenous hormones, such as ABA, GA, IAA and ZR, were measured to study the effect of endogenous hormones on seed germination. The results showed that the testa had some difficulty in permeability and mechanical restraint. There were germination inhibitions in all parts of seeds, and the order of inhibitory effect was testa < endosperm (embryo). Cold stratification could break the seed dormancy and promote germination effectively. As the stratification time extended, GA content increased obviously and ABA content fell sharply. Higher ratio of GA/ABA, IAA/ABA, and ZR/ABA could promote seed germination.

Keywords: *Styrax obassia* seeds; dormancy reason; cold stratification; endogenous hormone