

不同层积处理方法对东北红豆杉种子后熟过程中贮藏物质的影响

杨国会¹, 孙立梅², 邢力², 张宏硕²

(1. 吉林农业科技学院 教务处, 吉林 吉林 132101; 2. 吉林农业科技学院 生物工程学院, 吉林 吉林 132101)

摘 要:以东北红豆杉种子为试材,研究了不同浓度赤霉素(GA₃)及不同温度层积处理对东北红豆杉种子后熟过程中种子贮藏物质的影响,以探讨打破东北红豆杉种子休眠的有效途径。结果表明:结合 GA₃处理进行不同温度层积处理,与对照相比,东北红豆杉种子可溶性糖含量增加、脂肪含量下降、可溶性蛋白质含量下降,GA₃200 mg/L 处理结合变温层积效果最好,说明赤霉素处理结合变温层积能有效促进东北红豆杉种子后熟过程中贮藏物质转化,为胚发育提供养分和能量。

关键词:东北红豆杉;种子;层积处理;赤霉素;贮藏物质

中图分类号:S 687.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)14-0082-04

东北红豆杉(*Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.)属红豆杉科红豆杉属常绿乔木,又名紫杉、赤柏松、朱树^[1],是珍贵的第三纪孑遗树种,具有很高的药用、材用和观赏价值。东北红豆杉植株中紫杉醇含量较高,紫杉醇具有广谱的抗肿瘤活性,对乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胃癌、结肠癌等有特殊疗效。东北红豆杉种子具有深休眠的特性,在自然状态下,需经两冬一夏才能萌发,对其繁殖造成困难,自然繁殖率低,野生资源分布较少;东北红豆杉因其药用价值而过度开发,天然资源遭到严重的破坏。目前东北红豆杉资源非常稀缺,已成为中国甚至世界的珍稀濒危植物^[2]。很多学者为了探讨红豆杉属植物种子的休眠机理做了大量工作,程世等^[3]对红豆杉属种子休眠进行了研究,廖云娇等^[4]探讨了不同变温层积过程中东北红豆杉种子生理生化特性和胚形态的变化,李秋琦等^[5]探讨了南方红豆杉种子休眠解除过程中的生理生化特性。现以东北红豆杉种子为试材,采用两因素试验,通过不同浓度赤霉素及不同温度层积处理,测定东北红豆杉种子后熟过程中贮藏物质含量的变化,以期探讨打破东北红豆杉种子休眠的有效途径,为保护东北红豆杉资源提供依据。

第一作者简介:杨国会(1966-),女,吉林榆树人,硕士,教授,现主要从事植物生理生化的教学与科研工作。E-mail: ygh5449@126.com.

基金项目:吉林省教育厅 2010 年科研资助项目(2010231);吉林省科技厅 2010 年科研资助项目(20101581)。

收稿日期:2013-03-05

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为东北红豆杉种子,2011 年 10 月购于吉林省抚松县。

1.2 试验方法

采用两因素试验,结合赤霉素 GA₃处理采用低温层积 A1(10℃)、暖温层积 A2(20℃)和变温层积 A3(20℃/10℃昼夜各 12 h)处理。GA₃(B):B1(0 mg/L)、B2(100 mg/L)、B3(200 mg/L)、B4(400 mg/L)。共形成 12 个处理组合:A1B1、A1B2、A1B3、A1B4、A2B1、A2B2、A2B3、A2B4、A3B1、A3B2、A3B3、A3B4,设置 3 次重复,层积时间为 6 个月。

每个处理取种子 200 粒,与湿沙以 1:3 的体积比混匀,置于塑料盆中(直径 10 cm,高 9.5 cm)并放入培养箱中进行层积处理。每周倒种 1 次。

1.3 项目测定

1.3.1 可溶性糖含量的测定 可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[6]。可溶性糖含量(%)=标准曲线方程查得的糖含量(μg)×稀释倍数×100/样品重量(g)×10⁶,标准曲线方程 $y=0.044+0.004x$ 。

1.3.2 粗脂肪含量测定 粗脂肪含量测定采用索氏提取法^[7]。取 1.0 g 种子去壳,置于研钵内碾细,转至已烘干称重的脱脂滤纸中包好,放入样盒中,105℃烘 2 h 干燥脱水后称重,再置于索氏提取器的浸提管中,加入约 1/2 体积的乙醚,置于 80℃水浴中反复抽提 8~10 h,使样品中的粗脂肪物质全部浸提出来。残渣中的乙醚挥发之后,烘干至恒重,根据重量之差即可得出样品中的粗脂肪含量。粗脂肪含量(%)=粗脂肪重量×100/样品

干重。

1.3.3 可溶性蛋白质含量测定 可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法^[6]。蛋白质含量($\mu\text{g/g}$ FW)=标准曲线方程查得的蛋白质含量 \times 提取液总体积(mL)/测定取样品液体积 \times 样品重量(g)。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 13.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对东北红豆杉种子可溶性糖含量的影响

从图 1 可以看出,不同温度条件下的层积,经 GA_3 200 mg/L 处理的东北红豆杉种子的可溶性糖含量较高。由表 1 可知,经过 6 个月层积的各处理东北红豆杉种子的可溶性糖含量极显著高于对照;对于低温和暖温层积, GA_3 100、200 mg/L 处理过的东北红豆杉种子可溶性糖含量显著高于同一层积温度条件下的其它处理;对于变温层积 GA_3 200 mg/L 处理过的东北红豆杉种子可溶性糖含量显著高于其它处理。层积过程中,可溶性糖含量的增加是由淀粉、脂肪转化而来。

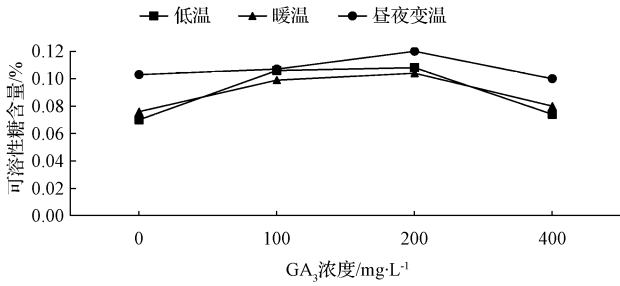


图 1 不同浓度 GA_3 处理与不同温度层积对东北红豆杉种子可溶性糖含量的影响

Fig. 1 Effect of different concentration GA_3 treatments with different temperature stratifications on the soluble sugar content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

表 1 不同浓度 GA_3 处理与不同温度层积东北红豆杉种子可溶性糖含量多重比较

Table 1 Results of multiple comparisons of different concentration GA_3 treatments with different temperature stratifications on the soluble sugar content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

层积处理	可溶性糖含量平均值 /%	差异显著性	
		0.05	0.01
CK	0.046	a	A
A1B1	0.073	b	B
A1B4	0.074	b	B
A2B1	0.076	b	B
A2B4	0.080	b	B
A2B2	0.099	c	C
A3B4	0.100	c	C
A3B1	0.103	c	C
A2B3	0.104	c	C
A1B2	0.106	c	CD
A3B2	0.107	c	CD
A1B3	0.108	c	CD
A3B3	0.120	d	D

2.2 不同处理对东北红豆杉种子粗脂肪含量的影响

从图 2 可以看出,不同温度条件下的层积,经 GA_3 200 mg/L 处理的东北红豆杉种子的粗脂肪含量较低。由表 2 可知,东北红豆杉种子中脂肪含量较高,层积进行 6 个月,各处理脂肪含量均在 62%以上,对照的粗脂肪含量则高达 80%,可见,脂肪是东北红豆杉种子最主要的贮藏物质。随着层积时间的延长,各个处理东北红豆杉种子中的脂肪含量均下降。这说明在层积的过程中,脂肪转化为其它物质。对于低温层积, A1B2 与 A1B3、A1B4 与 A1B1 差异不显著, A1B2、A1B3 即 GA_3 100、200 mg/L 处理过的东北红豆杉种子粗脂肪含量极显著低于 A1B4 及 A1B1;对于暖温层积, A2B3、A2B4、A2B2 间无显著差异,但 A2B3、A2B4、A2B2 极显著低于或显著低于 A2B1; A3B3 与 A3B4 差异不显著,与 A3B2、A3B1 差异极显著。

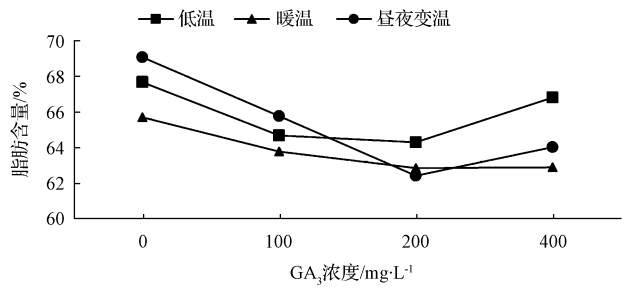


图 2 不同浓度 GA_3 处理与不同温度层积对东北红豆杉种子脂肪含量的影响

Fig. 2 Effect of different concentration GA_3 treatments with different temperature stratifications on fat content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

表 2 不同浓度 GA_3 处理与不同温度层积东北红豆杉种子脂肪含量多重比较

Table 2 Results of multiple comparisons of different concentration GA_3 treatments with different temperature stratifications on the fat content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

层积处理	脂肪含量平均值 /%	差异显著性	
		0.05	0.01
A3B3	62.415	a	A
A2B3	62.845	ab	A
A2B4	62.900	ab	A
A2B2	63.765	abc	AB
A3B4	64.015	abc	AB
A1B3	64.285	bcd	AB
A1B2	64.675	cd	ABC
A3B2	65.765	de	BCD
A2B1	65.995	def	BCD
A1B4	66.795	ef	CDE
A1B1	67.660	ef	DE
A3B1	69.065	fg	E
CK	80.040	h	F

2.3 不同处理对东北红豆杉种子可溶性蛋白质含量的影响

种子的可溶性蛋白质作为生物体形态结构的物质

基础在种胚发育过程中被利用,使可溶性蛋白质含量降低。从图3可以看出,不同温度条件下的层积,经GA₃ 200 mg/L处理的东北红豆杉种子的可溶性蛋白质含量极显著低于其它处理及对照。由表3可知,对于低温层积,A1B3、A1B2、A1B4间差异极显著,A1B4与A1B1差异不显著;对于暖温层积,A2B3与A2B2无显著差异,与A2B4差异显著,与A2B1差异极显著;A3B3、A3B2、A3B4间差异极显著。A3B4与A3B1差异不显著。

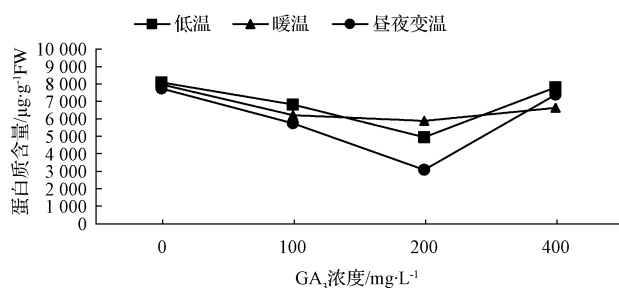


图3 不同浓度GA₃处理与不同温度层积对东北红豆杉种子可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 3 Effect of different concentration GA₃ treatments with different temperature stratifications on soluble protein content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

表3 不同浓度GA₃处理与不同温度层积东北红豆杉种子可溶性蛋白质含量多重比较

Table 3 Results of multiple comparisons of different concentration GA₃ treatments with different temperature stratifications on the soluble protein content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

层积处理	可溶性蛋白质含量平均值 /μg·g ⁻¹ FW	差异显著性	
		0.05	0.01
A3B3	3 085.48	a	A
A1B3	4 964.39	b	B
A3B2	5 742.86	c	BC
A2B3	5 885.17	c	CD
A2B2	6 224.26	cd	CDE
A2B4	6 629.77	de	DE
A1B2	6 833.89	e	EF
A3B4	7 552.45	f	FG
A3B1	7 742.86	f	GH
A1B4	7 808.22	f	GH
A2B1	7 956.52	f	GH
A1B1	8 084.98	fg	GH
CK	8 601.07	g	H

3 讨论

东北红豆杉种子在层积过程中,发生了一系列生理生化变化。东北红豆杉种子主要贮藏物质含量的变化表明,由于东北红豆杉种子成熟时种胚尚未发育完全,必然存在种胚的继续发育和分化过程。生物大分子淀粉、蛋白质和脂肪是植物种子中的重要贮藏物质,在种子萌发期间,它们在酶的作用下转化为简单小分子化合物,为胚的生长发育提供碳源、氮源和能量。可溶性糖是重要的能源,种子中可溶性糖主要来自于种胚和胚乳中现存的可溶性糖,也可由淀粉降解或脂肪降解、经糖异生途径生成^[8]。可溶性蛋白质主要为种子萌发提供氮素营养,为细胞蛋白质合成提供原料,为胚的形态发育和分化提供物质基础。对于脂肪含量高的种子,萌发过程中呼吸代谢底物主要来源于脂肪的降解与转化^[9]。因此,在种子休眠解除过程中,可溶性糖、蛋白质、脂肪的变化可以间接反映各种代谢活动的强弱,进而反映种子休眠解除的程度^[4]。

该试验结果表明,与对照相比,GA₃结合不同温度层积处理后使东北红豆杉种子的可溶性糖含量增加、脂肪含量下降、可溶性蛋白质含量下降,GA₃ 200 mg/L处理结合变温层积效果最好,说明赤霉素处理结合变温层积能有效促进东北红豆杉种子后熟过程中贮藏物质转化,为胚发育提供养分和能量,促进种子萌发。

参考文献

- [1] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990: 282-283.
- [2] 张新叶. 我国红豆杉资源的保护与可持续利用[J]. 湖北林业科技, 2002(5): 24-26.
- [3] 程世, 饶玮, 鲁顺保, 等. 红豆杉属树种种子休眠研究概述[J]. 现代农业科技, 2008(19): 8-11.
- [4] 廖云娇, 李雪, 董学会. 不同变温层积过程中东北红豆杉种子生理生化特性和胚形态的变化[J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(1): 39-44.
- [5] 李秋琦, 于海莲, 周凤娟, 等. 南方红豆杉种子休眠解除过程中的生理生化特性[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(6): 26-29.
- [6] 西北农业大学. 基础生物化学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1986: 16-18, 66-68.
- [7] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 184-185.
- [8] Sucherta S, Sakahi G, Satish K. Changes in lipid and carbohydrate composition of germinating soybean seeds under different storage conditions[J]. Asian Journal of Plant Sciences, 2007, 6(3): 502-507.
- [9] 袁伟伟, 谭小力, 周佳, 等. 油菜种子萌发期和形成期脂肪酶活性的动态变化[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(3): 482-486.

Effects of Different Concentrations of GA₃ with Different Temperature Stratifications on the Storage Substance Changes of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.

YANG Guo-hui¹, SUN Li-mei², XING Li², ZHANG Hong-shuo²

(1. Office of Academic Affairs, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101; 2. College of Bioengineering, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

丛枝菌根真菌对月季扦插成活率及生长的影响

韩东洋^{1,2}, 孟祥霞¹, 郭绍霞^{1,2}

(1. 青岛农业大学 菌根生物技术研究所, 山东 青岛 266109; 2. 青岛农业大学 园林与林学院, 山东 青岛 266109)

摘要:以月季为试材,在盆栽条件下,研究了丛枝菌根(Arbuscular Mycorrhizae, AM)真菌 *Glomus mosseae* 和 *G. versiforme* 对月季扦插成活率及扦插苗生长的影响。结果表明:接种 AM 真菌的植株均有效地被侵染,明显提高了月季扦插的生根率、成活率及扦插苗的生物量,促进了扦插苗根系的生长。AM 真菌的种类不同,其作用效果也存在差异。

关键词:丛枝菌根(AM)真菌;月季;扦插

中图分类号:S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)14-0085-03

月季(*Rosa chinensis*)属蔷薇科蔷薇属半长绿或长绿灌木,花形高雅,色彩绚丽,气味芳香,有“花中皇后”的美誉,为我国的十大名花之一,也是世界重要的切花种类,被国内外广泛引种栽培。月季常用繁殖方法有播种、扦插、嫁接和组织培养等,其中,扦插繁殖因取材容易、方法简单、繁殖系数高、经济适用,是最常用的方法。但是月季扦插成活率相对较低;采用吲哚丁酸、萘乙酸等植物生长调节物质处理可以促进月季插条生根^[1-2],但其成本较高,且使用复杂,在生产应用中常受到限制。

丛枝菌根(Arbuscular Mycorrhizae, AM)真菌是一种内生菌根真菌,能够与 90% 以上的陆生植物建立共生关系,形成丛枝菌根^[3],从而促进植物生长、促进养分吸收、提高植物品质以及保护植物抵御逆境^[4]。研究表明,AM 真菌能刺激插条生根,提高生根率和成活率,显著促进葡萄^[5-6]、西番莲^[7]、桑^[8]、滨梅^[9]和蛇足石杉^[10]

等扦插苗的生长。而 AM 真菌对月季扦插育苗的影响尚鲜见报道。该试验研究了丛枝菌根真菌摩西球霉菌(*G. mosseae*)和地表球霉菌(*G. versiforme*)对月季扦插成活率及扦插苗生长的影响,以期为提高其扦插苗成活率提供可行的方法,同时也为 AM 真菌在月季生产中的应用提供理论和技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料为月季,选择生长健壮、无病虫害、品质优良的植株作母株,再从母株上选择枝条粗壮、节间短、木质化程度好和叶片发育完整的枝条作插穗。插穗长 5~10 cm,保留 2 个芽以及 2 片小叶,上端剪成平切口,切口距芽 1 cm,下端剪成 45°斜切口。

供试菌种为摩西球囊霉(*G. mosseae*)和地表球囊霉(*G. versiforme*),用保存在三叶草培养基质中的孢子、菌根根段和菌丝作为 AM 真菌接种物,由青岛农业大学菌根生物技术研究所提供。每 100 g 菌根沙约含 600 个真菌孢子。

栽培基质为珍珠岩和草炭土按 1:3 比例混合过筛,经 121℃ 高压蒸汽灭菌 2 h 后备用。供试基质 pH 值为 6.40,速效钾为 150.22 mg/kg,速效磷为 8.98 mg/kg,

第一作者简介:韩东洋(1986-),男,山东人,硕士研究生,研究方向为观赏植物栽培生理。E-mail:handy811@126.com

责任作者:郭绍霞(1971-),女,博士,教授,研究方向为观赏植物栽培生理和菌根生理生态。E-mail:gsx2309@126.com

基金项目:青岛市科技计划基础研究资助项目(12-1-4-5-(4)-jch)。

收稿日期:2013-03-04

Abstract: Taking *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. seeds as test material, the effects of different concentrations of GA₃ with different temperature stratifications on the storage substance changes were studied, in order to explore effective ways to break seed dormancy of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. The results showed that combined the GA₃ treatment and the different temperature stratification, compared to CK, the soluble sugar content of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. was increased, the fat content was decreased, the soluble protein content was decreased, effect of GA₃ 200 mg/L treatment combined with the different temperature stratification was the best. It showed that Gibberellin treatment combination of the different temperature stratification can effectively promote the storage substance transformation of *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc. after maturity, providing nutrients and energy for embryo development.

Key words: *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.; seed; stratification; GA₃; storage substance