

蜡梅种子休眠原因浅析及赤霉素对种子萌发的影响

罗登攀, 刘道凤, 马婧, 眇顺照, 李名扬, 李先源

(西南大学 园艺园林学院, 南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆市花卉工程技术研究中心, 重庆 400716)

摘要:以蜡梅种子为试材,酸蚀30 min后研究种皮透水性;提取种子萌发抑制物,通过其对拟南芥种子萌发的影响研究萌发抑制物的分布;酸蚀处理后用GA₃溶液浸种,研究GA₃对蜡梅种子萌发的影响。结果表明:蜡梅种子的种皮透水性较差,严重阻碍种子吸水;种子浸提液抑制拟南芥种子萌发,萌发抑制物主要存在于种仁内;125~500 mg/L GA₃浸种处理可以打破蜡梅种子的生理休眠,提高种子的发芽势和发芽率;其中,250 mg/L GA₃浸种6 h效果最好;初始萌发时间为5 d,发芽势和发芽率分别达41.7%和95.8%,比对照分别提前3 d,提高25.23%和91.60%。

关键词:蜡梅;种子;抑制物质;赤霉素(GA₃);发芽率

中图分类号:S 685.17 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)01-0083-04

蜡梅科(Calycanthaceae)植物在世界范围内共分为4个属,包括10个种、4个变种。其中,蜡梅属(*Chimonanthus* Lindley)和夏蜡梅属(*Sinocalycanthus* Cheng & S. Y. Chang)分布于中国温带地区,美国蜡梅属(*Calycanthus* L.)分布于北美,椅子树属(*Idiospermum* Blake)分布于澳大利亚^[1]。蜡梅属为中国特有属^[2],分布于我国华东、华南、华中以及云贵高原地区,喜温暖湿润气候。蜡梅(*Chimonanthus praecox* (L.) Link)隶属蜡梅属,花

第一作者简介:罗登攀(1988-),女,四川雅安人,硕士研究生,研究方向为生物技术与花卉育种。E-mail:865239689@qq.com。

责任作者:李先源(1965-),男,硕士,副教授,研究方向为园林植物资源及利用。E-mail:lixyry@swu.edu.cn。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31070622)。

收稿日期:2014-08-14

瓣亮黄,集色香形姿于一体,是一种重要的冬季观花灌木^[3]。近年蜡梅专类园发展迅速,蜡梅盆景和切花颇受人们喜爱^[4]。蜡梅含萜稀类物质,是生产香精、精油和香水的上等原料;蜡梅富含生物碱、黄酮类化合物和香豆素类成分,具有抗菌、降压和增强免疫等作用^[5];蜡梅花茶等深加工产品也在不断开发。因此,蜡梅具有较高的观赏和经济价值。

近年来,全国出现了蜡梅产业竞相发展的局面。重庆建立了6 700万m²静观蜡梅博览园,河南鄢陵、上海嘉定、浙江遂昌等地的蜡梅产业已经或正在形成,使蜡梅苗木需求量逐年增加。蜡梅的主要繁殖方式是种子繁殖。而蜡梅种子具休眠特性,自然发芽率低^[3]。原因是种皮坚硬导致的机械休眠和萌发抑制物质的存在形成的生理休眠^[6]。针对其机械休眠,赵振利等^[6]用浓硫酸

underground part of plants, all plant growth, primary root length, the secondary root number, root fresh weight, root dry weight and germination rate. Followed by 214 poplar, its grew best on growth characteristics of aboveground part, same as red leaves poplar, primary root length, length and thickness ratio of roots, shoot length, better on growth characteristics of underground part and all plant growth, secondary root number, germination rate. Full red poplar, Chinese white poplar, 107 poplar, 108 poplar grew in a general way. Among them, full red poplar had maximum on secondary root number, longer primary root; Chinese white poplar had the strongest root activity and longer primary root; 108 poplar had longer primary root, more root fresh weight and stronger root activity; 107 poplar grew better on aboveground part of plants, had more secondary roots, longer length and thickness ratio of roots. Gold leaf poplar grew worst in all varieties and on above ground and underground part of plants, all plant growth, which had a minimum of secondary root number, fewer root fresh weight and root dry weight, shorter shoots. In a word, seedling quality of red leaves poplar and 214 poplar was the best in cutting propagation of container and among 7 varieties.

Keywords:poplar; variety; potting; cutting; growth characteristics

酸浸种 30 min 得到最佳的萌芽率。针对生理休眠,成仿云等^[7]在研究牡丹种子的萌发时发现赤霉素能在一定程度上解除生理休眠。

现以蜡梅种子为试材,酸蚀 30 min 后研究种皮透水性;提取种子萌发抑制物,研究对拟南芥种子萌发的影响;酸蚀处理后用不同浓度赤霉素(GA₃)浸种不同时间,研究GA₃对蜡梅种子萌发的影响,以期为优化蜡梅种子繁殖技术提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以蜡梅(*Chimonanthus praecox* (L.) Link)品种“磬口蜡梅”为试材,其种子于 2012 年 8 月采集于西南大学西农校区,选择成熟优良的种子晒干后,放置于室内阴凉干燥处密封保存。

1.2 试验方法

1.2.1 酸蚀处理对蜡梅种子吸水的影响 分别取经 98%浓硫酸处理 30 min 的种子和未经酸蚀(种皮完好)的种子各 100 粒,用万分之一电子天平称其质量。然后在 25℃下用蒸馏水浸泡 42 h,9 h 前每 3 h 称重 1 次,9 h 后每 6 h 称 1 次,直至 42 h。称重前用滤纸吸干表面水分,重复 3 次。

1.2.2 萌发抑制物质对拟南芥种子萌发的影响 参考宋会兴等^[8]的方法:取饱满种子的种皮、种仁和完整种子各 2、5、8 g,研磨后用 100 mL 蒸馏水 25℃浸提 48 h,得到质量浓度为 80、50、20 g/L 的浸提液。分别取 3 mL 置于直径为 8 cm 的培养皿中(培养皿底部垫 2 层滤纸),每皿播 50 粒拟南芥种子进行发芽试验。以同体积蒸馏水为对照,5 d 后统计其发芽率,重复 3 次。发芽温度为 25℃、光照强度 2 000~3 000 lx,光照时间为 16 h/d。

1.2.3 GA₃ 对酸蚀蜡梅种子萌发的影响 2012 年 12 月中旬,选择饱满完整的种子先经 95% 的浓硫酸处理 30 min,蒸馏水洗净,吸干表面水分,置于 0、125、250、500、1 000 mg/L GA₃ 溶液中浸种 3、6、12、24 h,共 20 个处理。浸种后用蒸馏水清洗,然后播于穴盘中,置于 25℃ 培养箱中发芽。每处理播种 20 粒,3 次重复。发芽期间,适时喷水以保持表土湿润,且每日观察记录发芽情况。始芽日是指从萌发试验开始到第 1 粒种子开始萌发所持续的天数。萌发高峰日即萌发量最大的时间距试验开始的天数。发芽持续期指种子开始萌发到最后一个萌发的总天数。发芽率(%)=种子发芽总数/供试种子总数×100%。发芽势(%)=达到高峰时发芽种子数/供试种子总数×100%^[9]。

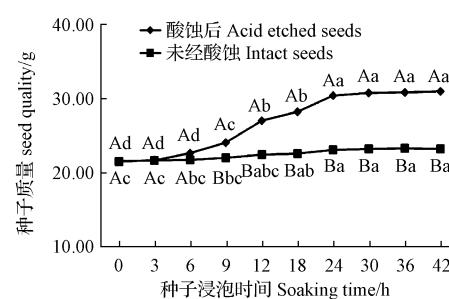
1.3 数据分析

采用 SPSS 软件对试验数据进行平均数计算,处理间差异性采用邓肯氏法检验(显著性标准为 0.05),采用 Excel 2003 软件绘制图表。

2 结果与分析

2.1 蜡梅种子休眠原因分析

2.1.1 酸蚀处理对蜡梅种子吸水的影响 由图 1 种子吸水曲线可知,未经酸蚀的种子在整个浸泡过程中吸水较少,种皮严重阻碍了种子的吸水性,且在浸泡 12 h 后种子质量就无显著变化。经过酸蚀的种子在浸泡 3 h 后吸水量快速升高,在浸泡 24 h 后种子质量无显著性差异($P<0.05$),说明种子吸水 24 h 基本达到饱和。结果表明,种皮对种子的透水性阻碍较大,影响了种子吸取发芽所必需的水分,不利于种子的萌发。



注:不同大写字母表示同一时间点下 2 种处理方式的种子质量的显著性差异比较($P<0.05$);不同小写字母表示同一种处理方式下不同时间点种子质量的显著性差异比较($P<0.05$)。

Note: Different capital letters show the seed quality comparison is made between different treatment at the same time ($P<0.05$); different lowercase letters show the seed quality comparison is made between different time of the same treatment ($P<0.05$).

图 1 蜡梅种子吸水曲线

Fig. 1 Water absorbing curve of wintersweet seed

2.1.2 萌发抑制物质对拟南芥种子萌发的影响 由表 1 可知,蜡梅种子、种皮及种仁的浸提液对拟南芥种子的萌发均有明显的抑制作用,随着浸提液浓度的增加,抑制作用增强。其中,种皮浸提液浓度逐渐增加,种子发芽率逐渐降低;而当种仁和完整种子的浸提液的浓度为 20 g/L 时,种子发芽率明显降低,当浸提液浓度达 50 g/L 时,不能发芽。结果表明,蜡梅种子萌发抑制物质存在于种子和种仁,且主要存在于种仁中。

表 1 蜡梅种子浸提液对拟南芥种子萌发的影响

Table 1 Effect of extracted liquid from wintersweet seed on seed germination of *Arabidopsis thaliana*

| 浸提液浓度 Water extract concentration (g·L ⁻¹) | 种子浸提液发芽率 Germination rate of seed extract/% | 种皮浸提液发芽率 Germination rate of seeds coat extract/% | 种仁浸提液发芽率 Germination rate of seeds kernel extract/% |
|---|---|---|---|
| 对照(CK) | 83 | 85 | 81 |
| 20 | 5 | 44 | 1 |
| 50 | 0 | 36 | 0 |
| 80 | 0 | 17 | 0 |

2.2 GA₃ 对蜡梅种子萌发的影响

2.2.1 GA₃ 浸种对蜡梅种子萌发历程影响

为研究不

同浸种浓度和浸种时间对蜡梅种子萌发历程的影响,对所处理的蜡梅种子的始芽日、高峰日、持续日进行记录,从而确定统计发芽势和发芽率的最佳时间。由表2可知,经不同浓度GA₃浸种处理后,蜡梅种子的始芽日和发芽高峰日均比对照提前,其中经GA₃处理3 h后,蜡梅种子的始芽日和发芽高峰日比对照提前了1 d;经GA₃处理6 h后各浓度处理蜡梅种子的始芽日、高峰日和持续期均较其它时间提前,125 mg/L和250 mg/L浓度GA₃处理的始芽日比对照提前3 d,发芽高峰日提前2 d,500 mg/L和1 000 mg/L浓度GA₃处理的始芽日比对照提前1 d,发芽高峰日提前1 d;经GA₃处理12 h后,各浓度GA₃浸种处理的蜡梅种子的始芽日都较对照提前1 d,发芽高峰日和发芽持续期与对照一致;经GA₃处理24 h后,蜡梅种子的始芽日、高峰日和发芽持续期较对照无差别。由此得出125 mg/L和250 mg/LGA₃浸种6 h为最佳处理,所需萌发时间最短,利于生产应用。

表2 不同浸种时间和浸种浓度对
蜡梅种子萌发历程的影响

Table 2 Effect of different soaking time and soaking concentration on germination process of wintersweet seed

| 浸种时间 /h | 赤霉素浓度 /(mg·L ⁻¹) | 始芽日 Initial germination/d | 高峰日 Peaking day/d | 持续期 Duration/d |
|------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------|-------------------|
| 3 | 0 | 8 | 11 | 14 |
| | 125 | 7 | 10 | 13 |
| | 250 | 7 | 10 | 13 |
| | 500 | 7 | 10 | 13 |
| | 1 000 | 7 | 10 | 13 |
| | 0 | 8 | 11 | 14 |
| 6 | 125 | 5 | 9 | 13 |
| | 250 | 5 | 9 | 13 |
| | 500 | 7 | 10 | 13 |
| | 1 000 | 7 | 10 | 13 |
| | 0 | 8 | 11 | 14 |
| | 125 | 7 | 11 | 14 |
| 12 | 250 | 7 | 11 | 14 |
| | 500 | 7 | 11 | 14 |
| | 1 000 | 7 | 11 | 14 |
| | 0 | 8 | 12 | 15 |
| | 125 | 8 | 12 | 15 |
| | 250 | 8 | 12 | 15 |
| 24 | 500 | 8 | 12 | 15 |
| | 1 000 | 8 | 12 | 15 |

2.2.2 GA₃ 浸种对蜡梅种子发芽势和发芽率的影响 为了比较不同浓度的GA₃在不同浸种时间下对蜡梅种子发芽率和发芽势的影响,由图2-A可知,用125 mg/L和250 mg/L的GA₃浸种3 h以及250 mg/L浸种6 h的发芽势效果最佳,发芽势均达到最高为41.7%,显著高于对照和其它处理。由图2-B可知,用蒸馏水浸泡蜡梅种子时,随着浸种时间的增加,发芽率逐渐上升。采用不

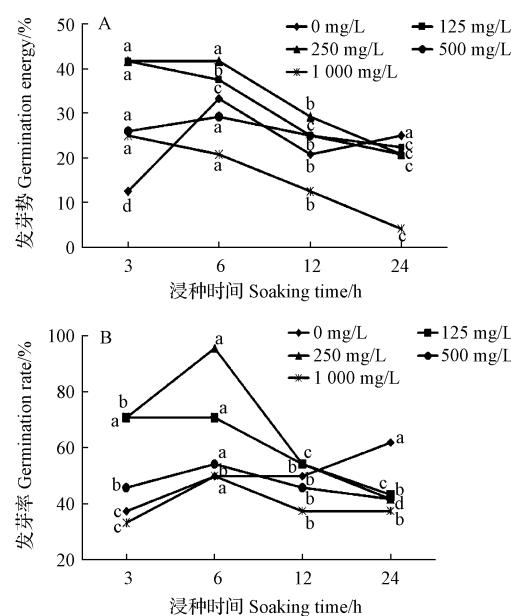


图2 GA₃ 浸种对蜡梅种子发芽势(A)和发芽率(B)的影响

Fig. 2 Effect of GA₃ solution soaking on the germination energy (A) and germination rate (B) of wintersweet seed

同浓度GA₃浸泡的蜡梅种子,发芽率随着浸种时间的加长普遍呈现先升高后降低的趋势。在浸种3 h的情况下,125 mg/L和250 mg/L处理后发芽率均显著高于其它浓度的发芽率;用250 mg/L的GA₃浸泡6 h时,得到了所有处理中最高的发芽率,为95.8%,显著高于对照和其它处理;浸种12 h时,除了蒸馏水浸种的发芽率升高,其余均较6 h的降低;浸种24 h时,清水处理的发芽率较其它浓度GA₃浸种的发芽率都高。结合发芽势和发芽率,确定蜡梅种子最佳的处理方式为250 mg/L浸种6 h,发芽势和发芽率显著高于对照,分别达41.7%和95.8%,较对照提高了25.23%和91.60%。

3 讨论

种子休眠是植物适应外界环境的一种生物学特性,对保证种族繁育有重要意义。蜡梅种子种皮较厚,阻碍种子吸水,是造成种子机械休眠的原因。种子萌发抑制物质的存在导致种子生理休眠,种子内脱落酸、酚类、有机酸、生物碱等萌发抑制物质在种子萌发的不同阶段,通过阻碍种子吸水、抑制呼吸作用、抑制酶活性,阻碍胚的生长,改变渗透压等发挥抑制作用^[10]。近年,蜡梅科植物的种子萌发抑制物质包括生物碱、香豆素类等非挥发性成分^[11]。在该试验中,蜡梅种子浸提液抑制拟南芥种子萌发,萌发抑制物主要存在于种仁中。萌发抑制物的分离鉴定有待进一步研究。

解除种子休眠的方法有物理、化学和生物学方法3类。其中,物理方法有干燥、层积、变温处理;化学方法主要有浓硫酸、高锰酸钾、次氯酸盐和过氧化物处理等;

生物学方法有赤霉素、细胞分裂素、萘乙酸、乙烯(利)处理等^[12]。理化方法主要用于机械休眠,生物学方法主要用于生理休眠的解除。赤霉素能促进 α -淀粉酶合成和提高其活性,从而直接影响种子的萌发速率^[13]。赤霉素浸泡种子可以促进包括光敏种子在内的浅生理休眠种子的萌发,在去除种壳后,赤霉素对打破中等强度的休眠也有效^[11]。一定浓度的赤霉素浸种可提高毛毡杜鹃^[9]、柚木^[14]等植物的种子发芽率,但不同植物适宜的处理浓度和时间不同。

在蜡梅播种繁殖中,随采随播发芽率仅80%^[15-16],播种10 d后开始出苗^[15];经一段时间储存后春播发芽率仅60%左右,酸蚀0.5~1.0 h后发芽率在70%左右^[16]。然而用赤霉素处理以提高蜡梅种子的研究尚鲜见报道。该试验先酸蚀种皮,使种皮透水性增强,后用不同浓度的赤霉素浸种。结果表明,酸蚀后的蜡梅种子用蒸馏水浸种24 h后发芽率提高,达62%,说明酸蚀软化了种皮,促进了种子对水分的吸收。用250 mg/L赤霉素浸种6 h,打破蜡梅种子生理休眠的效果最好,其发芽势和发芽率分别高达41.7%和95.8%,显著高于对照和其它处理,且始芽日较对照提前了3 d。因此,生产中在蜡梅播种时,可用酸蚀和赤霉素浸泡双重处理打破种子休眠,促进种子萌发。

(该文作者还有杨建峰、赵敏、王晓斌,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] 明军,明刘斌.蜡梅科植物种质资源研究进展[J].北京林业大学学报,2004,26(增):128-135.
- [2] Zhao M X, Fan G Q, Zhang X S. Establishment of *in vitro* plant regeneration system for *Chimonanthus praecox* (L.) [J]. African Journal of Biotechnology Vol, 2012, 11(45): 10358-10361.
- [3] Tang A, Tian M. Breaking combinational dormancy in seeds of *Chimonanthus praecox* L[J]. Seed Science and Technology, 2010, 38(3): 551-558.
- [4] 王凌云.突托蜡梅叶化学成分及生物活性初步研究[D].南昌:江西师范大学,2012.
- [5] 肖炳坤,刘耀明.蜡梅属植物分类、化学成分和药理作用研究进展[J].现代中药研究与实践,2003(2):59-61.
- [6] 赵振利,曹艳春,刘飞.浓硫酸处理对素心腊梅种子萌发的影响[J].河南林业科技,2011,31(4):1-2,28.
- [7] 成仿云,杜秀娟.低温与赤霉素处理对‘凤丹’牡丹种子萌发和幼苗生长的影响[J].园艺学报,2008,35(4):553-558.
- [8] 宋会兴,刘光立,高素萍,等.四川牡丹种子浸提液内源抑制物活性初探[J].园艺学报,2012,39(2):370-374.
- [9] 李畅,苏家乐,陈璐,等.赤霉素浸种对毛毡杜鹃种子萌发的影响[J].江苏农业科学,2011,39(6):278-279.
- [10] 孙佳,郭江帆,魏朔南.植物种子萌发抑制物研究概述[J].种子,2012,31(4):57-61.
- [11] 陈龙清.蜡梅科植物研究进展[J].中国园林,2012(8):49-53.
- [12] 傅强,杨期和,叶万辉.种子休眠的解除方法[J].广西农业生物科学,2003,22(3):230-234.
- [13] 林彰文.种子处理对玉米种子萌发及幼苗期生理生化的影响[D].长沙:湖南农业大学,2003.
- [14] 刘文明,梁坤南,潘一峰.赤霉素对柚木种实发芽率的影响[J].林业科学研究,2001,14(1):41-46.
- [15] 吴建忠.蜡梅的种子繁殖和实生选择[J].中国园林,1990,6(4):27-28.
- [16] 肖维凤.柳叶蜡梅的种子处理及播种育苗[J].林业实用技术,2006(11):45-46.

Inhibiting Substance and Effect of GA₃ on the Seed Germination of *Chimonanthus praecox* (L.) Link Seed

LUO Deng-pan, LIU Dao-feng, MA Jing, SUI Shun-zhao, LI Ming-yang, LI Xian-yuan, YANG Jian-feng, ZHAO Min, WANG Xiao-bin
(College of Horticulture and Landscape, Southwest University, Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing Engineering Research Center for Floriculture, Chongqing 400716)

Abstract: Taking *Chimonanthus praecox* (L.) Link seed as material, the water permeability of seed coat was studied after acid etched 30 minutes, the distribution of germination inhibitors were studied by the effect of extracted germination inhibitors on *Arabidopsis*' seed germination, and the effect of GA₃ on the seed germination using the wintersweet seeds treated by dense sulfuric acid were researched. The results showed that seed coat had a poor water permeability and hindered water absorption seriously, and seed extracting solutions mainly in kernel inhibited the germination of *Arabidopsis*' seeds. The treatment of 125 mg/L to 500 mg/L GA₃ could break the physiological dormancy and improved the germination rate and germination performance of the wintersweet seeds. The effective of soaking in 250 mg/L GA₃ for 6 hours was the best, and the time of germination was 3 days earlier than the control and the germination rate and germination energy reached 95.8%, 41.7% respectively, and 25.23%, 91.60% higher than that of the control respectively.

Keywords: *Chimonanthus praecox* (L.) Link; seed; inhibiting substance; gibberellin(GA₃); germination rate