

DOI:10.11937/bfyy.201706018

赤霉素提高露珠杜鹃种子活力机理

黄承玲^{1,2}, 刘广超², 赵孝梨¹

(1. 贵州民族大学 化学与环境科学学院,贵州 贵阳 550025;2. 贵州民族大学 人文科技学院,贵州 贵阳 550025)

摘要:以露珠杜鹃种子为试材,采用不同浓度(100 、 205 、 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的赤霉素(GA_3)浸种处理,测定其发芽率和生理指标,探讨赤霉素提高种子活力的生理机理。结果表明: GA_3 浸种能明显提高露珠杜鹃种子的发芽率,其中 $250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 浸种促进萌发的效果最佳; $250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 浸种能显著增强种子的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性,过氧化氢酶(CAT)活性则在 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GA_3 浸种时显著增强; GA_3 浸种能显著降低种子的可溶性蛋白质和丙二醛(MDA)含量。SOD、POD 活性和可溶性蛋白质含量与种子活力指数呈极显著相关关系。

关键词:露珠杜鹃;赤霉素(GA_3);浸种;萌发;生理特性**中图分类号:**S 685.21 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)06-0077-04

露珠杜鹃(*Rhododendron irroratum*)属常绿杜鹃亚属(*Hymenanthes*)灌木或小乔木植物,高 $2\sim 9\text{ m}$,花色丰富,多为淡黄色、白色,产自四川西南部、贵州西北部及云南北部,生长在海拔 $1\ 700\sim 3\ 200\text{ m}$ 的

第一作者简介:黄承玲(1977-),女,博士,副教授,现主要从事木本花卉的生理生态等研究工作。E-mail:chenglinghuang@163.com。

基金项目:贵州省国际科技合作计划资助项目(黔科合外J字2013[7035]);贵州民族大学引进人才资助项目(15XRY011)。

收稿日期:2016-09-28

常绿阔叶林或灌木丛中^[1]。露珠杜鹃具有较高的园艺价值,近年来在园林绿化中应用广泛,有较好的市场前景。目前市场上露珠杜鹃苗木主要来自于私挖乱采野生资源,对资源造成了浪费和破坏。但常绿杜鹃亚属的杜鹃种类无性繁殖技术还不成熟,而播种育苗种子萌发率低、幼苗生长慢^[2],因此,提高露珠杜鹃种子萌发率成为培育种苗的关键。利用外源激素处理种子是提高种子活力、促进种子萌发的常用手段^[3-9],已有很多研究表明赤霉素(GA_3)能明显促进杜鹃属植物种子萌发^[10-17]。樊丛令等^[2]研究证实赤霉素浸种能明显提高露珠杜鹃种子的发芽率,

Effect of Loading Fertilizer on *Exbucklandia populnea* Seedling in Two Matrixes

SU Fubao¹, SU Bin², MA Chaozhong², FENG Lixin¹, LI Rongzhen¹, LI Jianxing¹

(1. Department of Forestry Engineering, Guangxi Eco-engineering Vocational and Technical College/Guangxi Rare Indigenous Tree Propagation Center, Liuzhou, Guangxi 545004;2. Guangxi Napo County Nama State-owned Forest Farm, Napo, Guangxi 533900)

Abstract:One-year-old *Exbucklandia populnea* seedlings were planted in two types of loess and fertile soil matrixes. The effect of loading 0.5% nitrogen(N), high nitrogen(N) and potassium(K), high nitrogen(N) and phosphorous(P) contained fertilizers, and the common fertilizer were used on *Exbucklandia populnea* seedling growth, seedlings' height and ground diameter were studied. The results showed that seedling growth was greatly improved with both matrixes. *Exbucklandia populnea* seedling grew better when loaded balanced N,P,K on the loess matrix. *Exbucklandia populnea* seedling growth increased when the fertilizer loading quantity and frequency were increased. However, high N and K fertilizer improved *Exbucklandia populnea* growth mostly on fertile matrix.

Keywords:*Exbucklandia populnea*;matrix;fertilization effect;seedling height;ground diameter

但其并未对 GA₃ 促进萌发的机理进行深入研究。该试验以不同浓度 GA₃ 浸种对露珠杜鹃种子萌发的影响,以探讨 GA₃ 促进种子萌发的生理机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试成熟露珠杜鹃种子于 2013 年 11 月采自贵州省百里杜鹃自然保护区。在蒴果变为棕褐色且未开裂前采摘回实验室,平铺在阴凉通风处自然风干,再将蒴果里的种子抖落,收集贮存于牛皮纸袋中,放置在室内干燥处备用。种子呈褐色,扁平状,千粒质量 0.295 g。

1.2 试验方法

1.2.1 种子萌发试验 先用 70% 酒精消毒 30 s,再用 1% 次氯酸钠消毒 15 min,二次消毒后均用蒸馏水冲洗 5 次。GA₃ 浸种溶液设 100、250、500 mg·L⁻¹ 3 个浓度,以蒸馏水浸泡为对照,浸种时间 2 h,每处理种子数为 100 粒,重复 3 次。将消毒后的海绵平铺在培养皿中并保持海绵湿润,将经 GA₃ 溶液浸种后的种子整齐排列在海绵上^[17]。将装有种子的培养皿放置在光照培养箱中(温度设置为 25 ℃,每天光照 14 h),每天统计种子萌发数量,以伸出的胚根长度超过种子长度的一半时视为萌发,第 8 天统计发芽势,连续 10 d 没有种子萌发时计算发芽率,发芽率(%)=(正常发芽的种子数/处理种子数)×100。发芽指数 $G_i = \sum G_t / D_t$,其中 G_t 表示在第 t 日的发芽数, D_t 为对应的发芽日数。活力指数 $V_i = G_i \times S$,其中 S 表示胚根的生长势,用伸长的平均胚根长(mm)表示。

1.2.2 酶提取液的制备 将不同浓度 GA₃(100、250、500 mg·L⁻¹)浸种处理后的种子(准确称取

表 1

GA₃ 浸种处理对露珠杜鹃种子活力的影响

Table 1

Effects of GA₃ soaking treatment on vigor of *R. irroratum* seed

GA ₃ 浓度 GA ₃ concentration/(mg·L ⁻¹)	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
0(CK)	49.3A	28.3A	6.3A	32.1A
100	52.7A	39.4B	7.8A	42.0B
250	77.3B	59.2C	11.5B	63.0C
500	59.0A	40.8B	8.4A	45.7B

注:同列不同大写字母表示在 0.01 水平上差异显著。下同。

Note: Different capital letters in the same column show significant difference at 0.01 level. The same below.

2.2 GA₃ 浸种对露珠杜鹃种子可溶性蛋白质含量的影响

由图 1 可以看出,GA₃ 浸种处理后种子的可溶性蛋白质含量明显降低,且随着 GA₃ 浓度的增加,下降幅度加大。3 个处理浓度的可溶性蛋白质含量较对照均显著降低,达差异极显著水平,其

0.10 g 放在研钵中,用预冷的 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0,含 2% 聚乙烯基吡咯烷酮(PVP))研磨提取,匀浆后以 10 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,上清液即为酶提取液^[8]。以用蒸馏水为对照,重复 3 次。测定酶活性、丙二醛(MDA)及可溶性蛋白质的含量。

1.3 项目测定

采用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定各项生理指标,严格按照试剂盒说明书进行操作。采用考马斯亮蓝染色法测定可溶性蛋白质含量;采用氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,以其抑制氮蓝四唑光反应 50% 为单位, U·mg⁻¹ pro; 采用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性,以 OD₄₇₀ 1 min 增加 0.1 为一个单位酶活性; 采用紫外光比色法测定过氧化氢酶(CAT)活性,以 OD₂₄₀ 1 min 减少 0.01 为一个单位酶活性, U·mg⁻¹ pro·min⁻¹; 采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)含量,nmol·mg⁻¹ pro^[18]。

1.4 数据分析

采用 SPSS 和 Excel 软件分析数据和绘制图表,采用 Duncan 检验法进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 GA₃ 浸种对露珠杜鹃种子活力的影响

由表 1 可知,GA₃ 浸种后种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均有所提高,且随着 GA₃ 浓度的上升,以上指标均呈现先上升后下降的趋势,其中 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理时发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均最高,分别为 77.3%、59.2%、11.5 和 63.0,极显著高于对照。表明不同浓度 GA₃ 浸种可不同程度地提高种子活力。

中以 500 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种时种子的可溶性蛋白质含量最低,为 7.1 mg·g⁻¹。

2.3 GA₃ 浸种对露珠杜鹃种子抗氧化酶活性的影响

由表 2 可知,3 个浓度的 GA₃ 溶液浸种使露珠杜鹃种子 SOD 活性有所增强,其中 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸

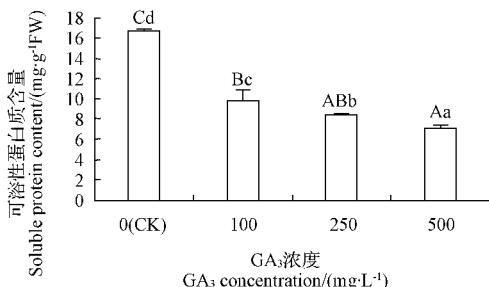
表 2

GA₃ 浸种处理对露珠杜鹃种子抗氧化酶活性的影响

Table 2

Effects of GA₃ soaking treatment on antioxidant enzyme activities of *R. irroratum* seed

GA ₃ 浓度 GA ₃ concentration/(mg·L ⁻¹)	超氧化物歧化酶活性 SOD activity/(U·mg ⁻¹ pro)	过氧化物酶活性 POD activity/(U·mg ⁻¹ pro·min ⁻¹)	过氧化氢酶活性 CAT activity/(U·mg ⁻¹ pro·min ⁻¹)
0(CK)	38.41Aa	15.08Aa	8.29Aa
100	48.54Ab	21.96Bb	16.67Cc
250	63.34Bc	32.74Cc	11.54Bb
500	42.78Aab	20.00ABb	9.10ABa



注: 不同大、小写字母表示在 0.01, 0.05 水平上差异显著。下同。

Note: Different capital and lowercase letters show significant difference at 0.01 and 0.05 levels. The same below.

图 1 GA₃ 浸种处理对露珠杜鹃种子可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 1 Effect of GA₃ soaking treatment on soluble protein content of *R. irroratum* seed

种时 SOD 活性最强, 比对照增加 24.93 U·mg⁻¹ pro, 且达差异极显著水平。100 mg·L⁻¹ 和 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种使种子的 POD 活性显著增强, 其中 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种后种子 POD 活性最高, 与对照相比均达差异极显著水平。100 mg·L⁻¹ 和 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种后种子 CAT 活性比对照极显著增加, 其中以 100 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种后种子 CAT 活性最大, 比对照提高 8.38 U·mg⁻¹ pro·min⁻¹; 但随着 GA₃ 浓度的增加, CAT 活性降低, 当浓度增加到 500 mg·L⁻¹ 时, CAT 活性较对照稍有提高, 但差异不显著。

2.4 GA₃ 浸种对露珠杜鹃种子丙二醛(MDA)含量的影响

如图 2 所示, 随着 GA₃ 处理浓度的增加, MDA 含量呈先降后升的趋势, 但均低于对照, 说明不同浓度的 GA₃ 浸种使种子 MDA 含量降低。其中以 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理的种子 MDA 含量下降幅度最大, 与对照相比下降了 7.60 nmol·mg⁻¹ pro, 二者达差异极显著水平; 500 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理的种子 MDA 含量与对照相比下降了 4.49 nmol·mg⁻¹ pro, 二者达差异极显著水平; 100 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理的种子 MDA 含量与对照差异不显著。3 个

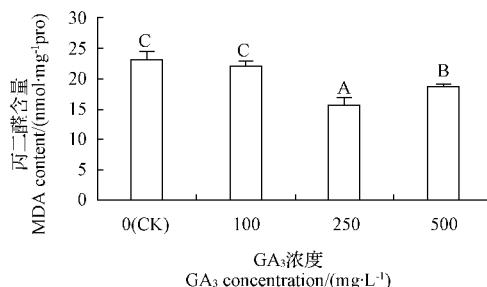


图 2 GA₃ 浸种处理对露珠杜鹃种子 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effect of GA₃ soaking treatment on MDA content of *R. irroratum* seed

GA₃ 浸种处理的种子 MDA 含量相差较大, 处理间达差异极显著水平。

2.5 露珠杜鹃种子活力与各项生理指标的相关性分析

分析露珠杜鹃种子活力指数与所测定的生理指标的相关性分枝可知, SOD 和 POD 活性与种子活力指数呈正相关, 相关系数分别为 0.858、0.900, 相关性达到极显著水平, 而 CAT 活性与种子活力指数的相关性不大; 可溶性蛋白质含量和 MDA 含量与种子活力指数呈负相关, 可溶性蛋白质含量与种子活力指数的相关系数为 -0.848, 相关性达到极显著水平; MDA 含量与种子活力指数的相关系数为 -0.697, 达到显著水平。

3 结论与讨论

GA₃ 浸种明显促进了露珠杜鹃种子萌发, 其中以 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种时种子发芽率提高至 77.3%, 而樊丛令等^[2]研究认为 300 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种时露珠杜鹃种子发芽率高达 78%, 二者研究结果基本一致。同时, 250 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种时种子发芽势、发芽指数和活力指数均达到最高。种子在萌发过程中, 蛋白质降解会生成各种游离氨基酸, 大部分供胚重组蛋白质利用, 另一部分经脱氨转化为糖类供胚作呼吸的原料^[19]。GA₃ 浸种处理后露珠杜鹃种子的可溶性蛋白质含量明显降低, 表明 GA₃ 浸种能加快可溶性蛋白质降解为其它营养物质, 从而增强种子活力。在正常的植物细胞代谢过程中会不

断产生和积累活性氧,过多活性氧会对植物细胞、组织产生损害。一般情况下植物细胞中有专门清除活性氧的酶系统,首先 SOD 通过歧化作用将超氧离子自由基转化成过氧化氢(H_2O_2),然后 POD、CAT 将 H_2O_2 还原为没有毒性的水,从而保持活性氧的产生和清除处于动态的平衡,避免植物受到伤害^[20]。250 mg · L⁻¹ GA₃ 浸种明显增强露珠杜鹃种子的 SOD 和 POD 活性,而 100 mg · L⁻¹ GA₃ 浸种显著增强种子 CAT 活性,表明该研究结论与朱世杨等^[8]、张春椿等^[19]的研究结果相似,说明一定浓度 GA₃ 提高了抗氧化酶活性,增强了种子活力,从而促进种子萌发。没有完全清除的超氧离子自由基会造成细胞膜脂过氧化,直接产物是 MDA。该试验 GA₃ 浸种降低了露珠杜鹃种子的 MDA 含量,其中以 250 mg · L⁻¹ GA₃ 浸种处理的种子 MDA 含量最低与朱世杨等^[8]、刘凤等^[21]研究结论一致。表明 GA₃ 减轻了种子膜脂过氧化的程度,是 GA₃ 增强种子活力的途径之一。SOD、POD 活性和可溶性蛋白质含量与露珠杜鹃种子活力指数的相关性达极显著水平,是 GA₃ 促进种子活力提高的主要因素,但能否作为测定种子活力的指标,则需要深入研究。

参考文献

- [1] 胡琳贞,方明渊.中国植物志:第五十七卷,杜鹃花科,第二分册 [M].北京:科学出版社,1994,130-131.
- [2] 樊丛令,陈训,刑晋宁.不同处理对露珠杜鹃种子萌发的影响 [J].种子,2011,30(4):106-108.
- [3] 宋杰,丁鲲,龙江,等.北美红杉(*Sequoia sempervirens*)种子萌发特性研究 [J].西南农业学报,2012,25(4):1427-1431.
- [4] 莫云容,张培欣,邵贵芳,等.不同浓度赤霉素与双氧水对刺茄种子萌发的影响 [J].北方园艺,2016(9):32-34.
- [5] 孟淑春,余振宙,宋顺华,等.赤霉素处理促进不同品种茄子种子萌发的比较研究 [J].北方园艺,2015(23):33-35.
- [6] 蒋春艳,郭达伟,曾军,等.细梗香草种子发芽试验 [J].江苏农业科学,2015,43(5):246-247.
- [7] 夏瑾华,喻慧荣,邹如意,等.6-BA、赤霉素和水杨酸对甜瓜种子萌发的影响 [J].江苏农业科学,2015,43(12):204-206.
- [8] 朱世杨,张小玲,罗天宽,等.GA₃ 对老化花椰菜种子活力和几种相关生理生化性状的影响 [J].植物生理学通讯,2010,46(2):143-146.
- [9] 李海平,任彩文.赤霉素浸种对苦荞种子萌发生理特性的影响 [J].山西农业科学,2009,37(2):19-21.
- [10] 高贵龙,龙秀琴,胡小京,等.赤霉素对两种高山杜鹃种子发芽的影响 [J].种子,2010,29(5):22-25.
- [11] 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.
- [12] 马宏宇,赵伟,金慧,等.赤霉素处理长白山牛皮杜鹃种子发芽实验 [J].北华大学学报(自然科学版),2013,14(4):463-465.
- [13] 陈雪梅,欧静,陈训,等.雷山杜鹃种子特性及萌发试验研究 [J].江苏农业科学,2014,42(8):184-186.
- [14] 赵冰,董进英,张冬林,等.温度、光照和赤霉素浓度对秀雅杜鹃种子萌发的影响 [J].种子,2014,33(5):26-30.
- [15] 刘林,张良英,牛歆雨,等.温度和赤霉素浸种对两种高山杜鹃种子发芽的影响 [J].北方园艺,2016(3):69-71.
- [16] 郑嵩,陈训,陈益新,等.不同处理对迷人杜鹃种子萌发的影响 [J].贵州科学,2013,31(3):65-68.
- [17] 黄承玲,周洪英,陈训,等.GA₃ 浸种对大白杜鹃种子萌发的影响 [J].植物生理学通讯,2010,46(8):793-796.
- [18] 刘家尧.植物生理学实验教程 [M].北京:高等教育出版社,2010:60-65.
- [19] 张春椿,年慧慧,李石清,等.激素加变温层积法处理南方红豆杉种子生理生化变化研究 [J].中华中医药杂志,2012(10):2723-2726.
- [20] 蒋高明.植物生理生态学 [M].北京:高等教育出版社,2004:175-176.
- [21] 刘凤,曹帮华,蔡春菊,等.GA₃ 提高毛竹种子活力的机理探索 [J].西南林学院学报,2009,29(1):22-25.

Mechanism of Improving Seed Vitality of *Rhododendron irroratum*

HUANG Chengling^{1,2}, LIU Guangchao², ZHAO Xiaoli¹

(1. College of Chemistry and Environmental Science, Guizhou Minzu University, Guiyang, Guizhou 550025; 2. College of Humanities and Sciences, Guizhou Minzu University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract: Seeds of *Rhododendron irroratum* were used as materials and soaked by different concentrations of GA₃ solutions(100, 250, 500 mg · L⁻¹). The germination rate and physiological index of *Rhododendron irroratum* were determined to study the mechanism of improving seed vitality. The results showed that the germination rate could significantly improved by soaking with GA₃, the germination rate was the highest when GA₃ concentration was 250 mg · L⁻¹. SOD and POD activities were significantly enhanced by soaking with 250 mg · L⁻¹ GA₃. CAT activity was significantly enhanced by soaking with 100 mg · L⁻¹ GA₃. The contents of MDA and soluble protein were significantly reduced by immersing with GA₃. SOD, POD activities and soluble protein content were significantly correlated with seed vigor index.

Keywords: *Rhododendron irroratum*; GA₃; seed immersion; germination; physiological characteristic