

凤丹种子休眠特性研究

郭丽萍,张延龙*,牛立新,罗建让

(西北农林科技大学 风景园林艺术学院,陕西 杨陵 712100)

摘要:以凤丹种子(*Paeonia ostii*)为试验材料,通过对凤丹种子种皮透水性、种胚形态和生活力、种子内源抑制物质活性的测定,研究凤丹种子休眠特性。结果表明:凤丹种皮降低种子吸水速度,但不影响最终吸水率,完整种子浸种 56 h 种子吸水基本达到饱和,对凤丹种皮进行酸蚀或去皮处理不会提高萌发率,凤丹种皮不是休眠的主要原因;成熟的凤丹种子生活力达 95.6%,但种胚发育不完全,其需经过一定时间的层积,种胚才能不断生长分化,完成后熟;种皮和胚乳中含有的萌发抑制物质对白菜种子和自身种子萌发有显著抑制作用,且种皮和胚乳中的抑制物含量和种类不同;300 mg · L⁻¹ 的外源 GA₃ 能够有效提高凤丹种子萌发率。凤丹种子休眠是由于种胚发育不完全和生理后熟以及种子内存在抑制物质引起的综合休眠。

关键词:凤丹;种子;休眠;萌发

中图分类号:S567.15 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2016)04-0165-05

Dormancy Properties of *Paeonia ostii* ‘Feng Dan’

GUO Li-ping,ZHANG Yan-long*,NIU Li-xin,LUO Jian-rang

(College of Landscape Architecture and Arts,Northwest A&F University,Yangling,Shaanxi 712100,China)

Abstract: This research focused on the dormancy traits of the seeds of a tree peony cultivar, *Paeonia ostii* ‘Feng Dan’, by studying the water permeability of the seed coat, form and vitality of the seed embryo as well as activity of the endogenous inhibitors. The results indicated that the seed coat hindered the speed of water absorption, but it did not affect the final water absorbance ratio of the seeds. The seeds were saturated after they were immersed in water for 48 hours, from which the germination rate would not be enhanced by de-coating or acid degradation treatments. The vitality of the mature seeds could reach to as high as 95.6%. However, the embryos were not fully developed, stratification treatment should be carried out to accelerate embryo differentiation and to finish post-mature process. The endogenous inhibitors contained both in seed coat and embryo had significant inhibiting effects on seeds of *Brassica pekinensis* and peony itself. The contents and the types of endogenous inhibitors in seed coat were different from those in seed embryo. Extraneous hormone GA₃ with a concentration of 300 mg · L⁻¹ could enhance the seed germination rate. In conclusion, the seed dormancy of *P. ostii* ‘Feng Dan’ was a comprehensive result caused by the immaturity of seeds and the inhibitors.

Key words: *Paeonia ostii* ‘Feng Dan’; seed; dormancy; germination

种子休眠是指具有生活力的种子在适宜的环境下不能萌发的现象^[1]。自然环境下,种子休眠能够使植物在恶劣的环境中存活,有利于种族的延续。

但在生产栽培中,种子休眠往往造成发芽需时长、出苗不齐等问题。目前关于很多关于种子休眠的原因的报道,一般认为导致休眠的原因主要有:种皮坚硬

收稿日期:2015-08-19 修回日期:2015-09-28

基金项目:林业公益性行业科研重大专项“油用牡丹新品种选育及高效利用研究与示范”(201404701)。

作者简介:郭丽萍,女,硕士研究生,研究方向:园林植物种植资源与育种。E-mail:18829785957@163.com

* 通信作者:张延龙,女,教授,博士生导师,研究方向:观赏植物种质资源保护、育种与开发利用。E-mail:zzlzz@126.com

且透性差、种子中含有萌发抑制物质、胚发育不完全。如巴东木莲(*Manglietia patungensis*)种子在成熟时,种胚在形态上仅有芽端和根端的分化,胚发育不完全^[2];野皂荚(*Gleditsia microphylla*)种子种皮坚硬致密以及透水性差是影响其种子萌发重要因素^[3];云南红豆杉^[4](*Taxus yunnanensis*)、麻花秦艽(*Gentiana staminea*)^[5]、白桂木(*Artocarpus hypargyreus*)种子^[6]中存在萌发抑制物质,是种子休眠的重要原因。宋会兴^[7]、周理平^[8]等人在紫斑牡丹和四川牡丹种子提取出了抑制萌发的物质,能够导致紫斑牡丹和四川牡丹种子休眠。

凤丹^[9](*Paeonia ostii* ‘Feng Dan’)不仅是药用牡丹中的珍稀品种,也是重要的油用牡丹品种,具有很高的栽培价值。其主要采用种子繁殖,由于种子具有长的休眠期^[10-11],从播种到发芽需历时6个月,且存在发芽率低、出苗不齐等问题,对凤丹的快速育苗造成了极大的障碍。本试验以凤丹种子为研究材料,从种皮透性、种胚形态结构、种子内源激素等方面系统地研究凤丹种子休眠原因,以期以人工调节的方式打破休眠提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

凤丹种子于2014年8月采自于宝鸡市凤翔县,为当年成熟种子(果荚蟹黄色,微裂),在室内通风干燥环境下贮藏,选取饱满、大小均匀的种子(千粒重261.32 g,含水量16.31%)。

1.2 种胚形态观测及活力测定

种胚形态观测和活力测定:用TTC法^[13]检测种子活力。取足量种子,0.5%高锰酸钾消毒15 min,清水浸泡48 h后平铺在方形花盆(50 cm×20.5 cm×14 cm)中层积,基质为湿度60%左右的砂土,层积厚度为6 cm左右,试验过程中适时浇水,保持基质湿度。分别在0、15、30、45、60 d随机取出50粒种子,统计萌发率后取出种胚,在显微镜下观测拍照,并测量种胚的大小(长、宽),用0.1%TTC溶液在30℃恒温条件下染色,12 h取出观察,种胚染成红色为有活力种子。重复3次。

1.3 种皮透水性试验

取完整种子,酸蚀种子((98%浓硫酸处理15 min)、剥除种皮种子各100粒。25℃恒温加蒸馏水浸泡,前14 h每隔2 h捞出种子,吸干种子表面水分,在万分之一电子天平上称重,之后每6 h称重,直至种子恒量,计算种子的吸水率。将吸水饱和的种子在15℃条件下层积,层积基质湿度保持在60%左右,层积30、60 d后统计萌发率。每个处理重复3次。

吸水率=[(浸种后重量-浸种前重量)/浸种前重量]×100%

1.4 内源抑制物活性测定

粗提液的制备:参照赵敏^[13]等方法制备。称取凤丹种子10 g(烘干后),将种皮、胚乳、胚分离,40℃条件下烘干粉碎。加入80 mL蒸馏水,4℃恒温条件浸提24 h,连续浸提3次,合并浸提液。将滤液4 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,35℃旋转蒸发浓缩后,定容至50 mL,即得到凤丹种子各部分粗提液。用去离子水将粗提液浓度制成0%(对照)、25%、50%、75%、100%。

粗提液对白菜种子萌发和幼苗生长的影响:于铺有双层滤纸的9 cm培养皿内均匀放入50粒白菜种子,分别加入各浓度粗提液7 mL,置于25℃光照条件下培养,24 h统计萌发率,72 h测定根长和苗高。每个处理重复3次。

粗提液对自身种子萌发的影响:选取饱满的凤丹种子,分为3组,每组各100粒,浸泡消毒后于口径20 cm花盆中层积,每组分别加入浓度为100%的休眠期种子种皮、胚乳浸提液7 mL。层积30、60、90 d统计萌发率

GA₃处理对种子内源激素及种子萌发的影响:选取饱满的凤丹种子,用0.5%的高锰酸钾溶液消毒15 min,用清水冲洗干净后分别用0、100、300、500 mg·L⁻¹GA₃浸泡48 h,将3组种子置于口径为20 cm的花盆中层积。层积后的15、30、45、60 d随机从各组种子选取50粒,统计萌发率。

采用SPSS13.0和Excel 2010软件进行数据分析和图表绘制。

2 结果与分析

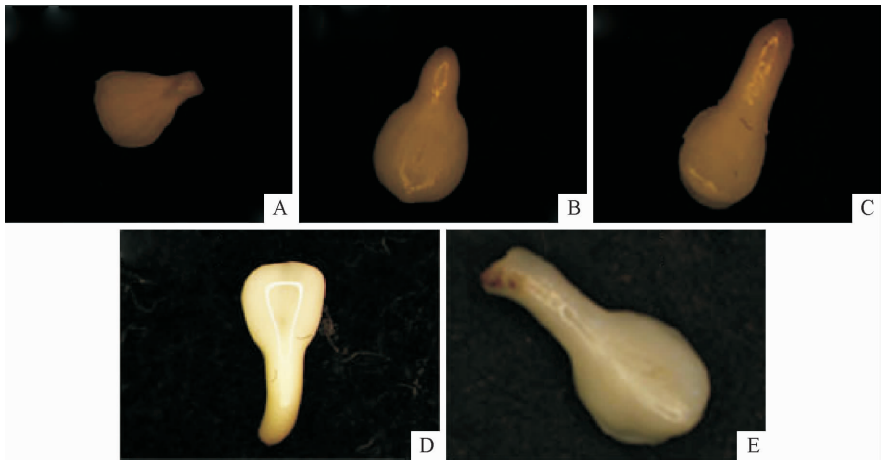
2.1 层积过程中种胚形态结构和生活力变化及萌发率

在整个层积过程中,凤丹的种子一直有很高的生活力(表1),高达95.6%,具有发芽潜力,然而在此过程中种子的萌发率极低,层积30 d的萌发率仅为16.67%,层积60 d的萌发为66.67%,显著小于种子活力。表明种子萌发率低不是因为种子活力低,凤丹种子具有休眠性。

凤丹的种胚在种子外形成熟采摘后,并没有达到形态成熟(图1)。层积前的种胚很小,且胚根、胚轴、子叶的分化不明显(图1A),形态发育不完全。层积15 d后,种胚变大,主要是子叶变大,但胚根和胚轴分化仍不明显(图1B)。30 d后,胚轴明显伸长(图1C),此阶段子叶变化不明显。45 d时,种胚已分化出完整的胚根、胚轴、子叶,此时已有部分种皮

表 1 层积过程中凤丹种子萌发率和生活力
Table 1 Germination rate and viability of *P. ostii* ‘Feng Dan’ seeds

层积时间/d	有活力种数	无活力种数	生活力/%	萌发率/%
0	48.33	1.67	96.67	0
15	47.00	3.00	94.00	0
30	46.00	4.00	92.00	16.67
45	46.33	3.33	92.67	39.33
60	46.67	1.33	93.33	66.67



A: 0 d; B: 15 d; C: 30 d; D: 45 d; E: 60 d.

图 1 凤丹种胚形态结构变化

Fig. 1 The changes in morphology and structure of embryo of *P. ostii* ‘Feng Dan’

开裂胚根突破种皮(图 1D)。60 d 后胚根迅速伸长,此阶段的子叶继续膨大,长度约占整个胚乳的 1/2 (图 1E)。说明种子在成熟采摘后,种胚并没有达到形态成熟,种胚形态发育不完全,是导致凤丹的种子休眠的主要因素之一。

2.2 种皮的透水性

在整个吸水过程,完整种子吸水率在缓慢增加,吸水速度大致恒定,并且显著低于酸蚀和剥除种皮的种子的吸水速度(图 2)。剥除种皮的种子吸水率随浸种时间成抛物线变化,14 h 的吸水率为(50.45±1.36)%,之后基本不再增加。酸蚀种子的吸水率介于剥除种皮的种子和完整的种子之间,在浸泡 30 h 达到饱和。而完整的种子浸泡吸水速度较慢,14 h 的吸水率仅为(15.21±1.17)%,在浸种 56 h 时达到饱和。但 3 种处理种子吸水饱和时的吸水率大致相等。完整种子层积 60 d 的萌发率为 70%左右,而酸蚀种子和去皮种子萌发率低于完整种子,分别为 50.3%和 41.7%,且 2 种处理的种子在层积过程中有发霉现象。表明凤丹种皮能够降低种子吸水速度,但不会影响最终吸水率,完整种子浸种 56 h 种子吸水基本达到饱和。浓硫酸和去皮处理可以改善种皮透性,加快种子对水分的吸收,但不会提高种子萌发率。综上所述,种皮的透性和种皮的机械阻碍不是凤丹种子休眠的主要原因。

2.3 凤丹种子粗提物抑制活性

2.3.1 凤丹种子粗提液对白菜种子萌发和幼苗生长的影响 凤丹种子的种皮和胚乳粗提液对白菜种子的萌发和幼苗生长都有明显的抑制作用,随着浓度的增加,抑制作用增强(图 3)。当浓度为 100%时,种皮和胚乳粗提液处理的白菜种子萌发率仅为对照组的 64.3%和 15.8%,并且胚根全部腐烂死亡。相同浓度下,胚乳粗提液对白菜种子萌发和上胚轴生长的影响大于种皮粗提液,对白菜种子胚根生长的影响弱于种皮粗提液,且两者差异明显。不同浓度的种胚浸提液对白菜种子的萌发和幼苗生长

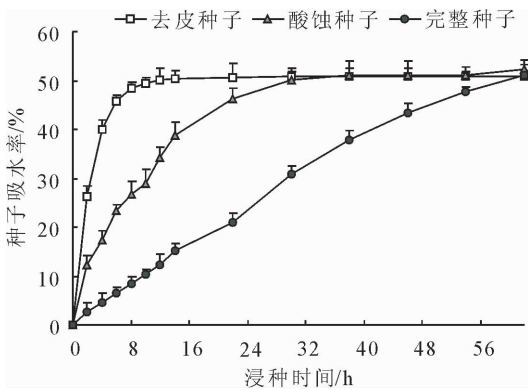
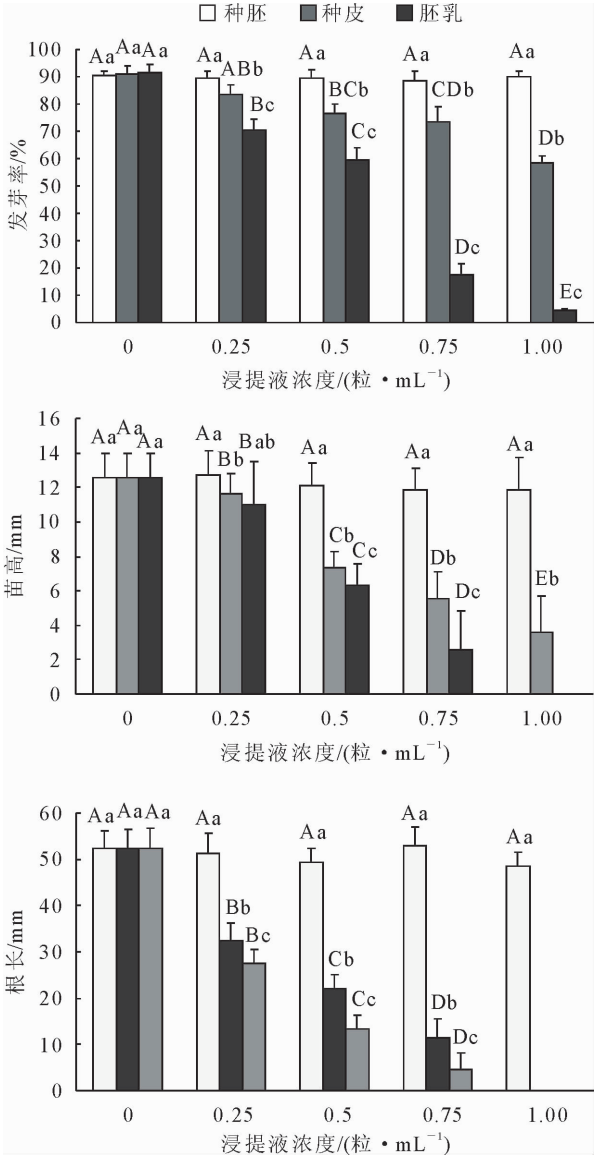


图 2 25℃ 凤丹种子吸水率随浸泡时间的变化

Fig. 2 Changes of water absorption of *P. ostii* ‘Feng Dan’ seed with soaking time under 25℃



注:不同大写字母表示相同物质不同浓度处理间差异显著($p<0.05$);不同小写字母表示相同浓度不同物质处理间差异显著。

图3 凤丹种子粗体物对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

Fig. 3 Effect of crude extract from *P. ostii* 'Feng Dan' seeds on germination and seedling of *Brassica pekinensis*

无显著影响。说明种胚中不存在抑制物质,种皮和胚乳中存在较强的抑制物质,能够抑制白菜种子萌发和

表3 GA₃ 处理对凤丹种子萌发的影响

Table 3 Effect of GA₃ treatment on germination of *P. ostii* 'Feng Dan' seeds

项目	萌发率			
	层积 15 d	层积 30 d	层积 45 d	层积 60 d
对照	0.00±0.00b	16.00±2.00c	36.00±2.00b	66.00±1.00b
100 mg·L ⁻¹ GA ₃ 处理	0.00±0.00b	21.67±1.53b	38.00±1.00b	67.33±0.58b
300 mg·L ⁻¹ GA ₃ 处理	12.67±2.52a	30.67±2.52a	46.00±1.00a	79.67±2.52a
600 mg·L ⁻¹ GA ₃ 处理	9.67±1.53a	32.33±1.5a	47.67±1.55a	78.67±1.523a

注:数据为平均值±标准差,不同小写字母表示差异显著($p<0.05$)。

3 结论与讨论

种子休眠是植物适应环境的一种生物特性,对

幼苗生长,且两者含有的抑制物种类和含量不同。

2.3.2 凤丹种子粗体物对自身种子萌发的影响

凤丹种皮和胚乳粗提液对自身的萌发有显著的抑制作用,且胚乳粗提液的抑制作用大于种皮粗提液,随着层积时间的增长,抑制作用逐渐减弱且两者的差异性减小(表2)。层积30 d,种皮和胚乳粗提液处理的种子萌发率分别为对照组的58.94%和47.75%。层积90 d,种皮和胚乳粗提液处理的种子萌发率分别为对照组的92.22%和86.54%,抑制作用明显减弱。说明凤丹种子抑制物能够抑制凤丹种子萌发,与凤丹种子休眠的密切关系,层积和水浸泡均能够有效地分解抑制物。

表2 凤丹种子粗提液对自身萌发的影响

Table 2 Effect of crude extract from *P. ostii* 'Feng Dan' on germination of *P. ostii* 'Feng Dan' seeds

项目	萌发率		
	层积 30 d	层积 60 d	层积 90 d
对照组	37.67±1.53	66.33±1.53	73.33±2.00
种皮粗提液处理	43.33±1.00	61.67±1.53	69.33±1.53
胚乳粗提液处理	21.33±1.53	52.67±2.52	65.67±0.58

2.3.3 GA₃ 处理对种子内源激素及种子萌发的影响

层积15 d,300 mg·L⁻¹GA₃和600 mg·L⁻¹GA₃处理的凤丹种子萌发率分别为12.67%和9.67%,而蒸馏水和100 mg·L⁻¹GA₃处理的凤丹种子均为0。层积60 d,300 mg·L⁻¹GA₃处理的种子的萌发率最高,达79.67%,100 mg·L⁻¹GA₃和600 mg·L⁻¹GA₃处理的凤丹种子萌发率分别为67.33%和78.67%,效果均<300 mg·L⁻¹GA₃(表3)。多重比较分析:100 mg·L⁻¹GA₃处理结果与对照组差异不显著,300 mg·L⁻¹GA₃和600 mg·L⁻¹GA₃处理结果与对照组差异显著,但二者之间差异不显著。表明外源激素可以通过改变内源激素的含量而调节种子休眠与萌发,在生产中使用300 mg·L⁻¹GA₃浸种48 h,不仅可以显著提高种子萌发率,还可以使种子萌发提前萌发。

植物自身的繁殖和种族的繁衍有着重大意义,但对农业、林业生产则是一项重大挑战^[15]。凤丹从播种到发芽需历时6个月,且发芽率低,但对凤丹种子活

力测定试验结果发现, 凤丹种子发芽率低并不是由于种子活力低, 而是凤丹种子存在休眠。

植物种子休眠的原因主要包括种皮障碍、种胚发育状况和内源萌发抑制物 3 个方面, 很多植物种子由于种皮透性差或机械阻碍而导致休眠, 如菜豆种皮结构致密, 透水透气性差^[16]。凤丹种子吸水试验结果发现, 凤丹种皮对种子的吸水速度有一定的影响, 不影响吸水饱和时的吸水率; , 种皮不是影响凤丹种子休眠的主要因素。

有些植物在果实成熟时, 种胚尚未发育完全, 需经过一段时间的成长, 种胚才能发育完全, 如银杏(*Ginkgo biloba*)和玉兰(*Magnolia dunudata*)等种子从母体脱落时, 种胚尚小, 需经数月才能充分成长, 才能萌发^[15]。在对层积过程中种胚形态结构观测发现, 种胚需要经过一定时间的层积处理, 完成形态和生理后熟。

许多植物种子中存在萌发抑制物质, 是种子休眠的重要原因, 如云南红豆杉、麻花秦艽、羊草种子等。对凤丹种子粗提液活性测定结果发现: 凤丹种子种皮和胚乳中存在较强的抑制物质, 能够抑制白菜种子萌发和自身种子的萌发。生产中可用 300 mg · L⁻¹GA₃ 浸种 48 h, 来打破种子休眠, 提高种子萌发率。

本试验首次从种皮、种胚和内源抑制物 3 方面系统的研究了凤丹种子休眠原因及特性, 初步确定凤丹种子休眠原因及休眠类型: 凤丹种子休眠是种胚形态发育不完全和生理后熟以及种子内存在抑制引起的休眠物质, 是综合休眠。但对于种子内抑激素的种类、含量、比例以及各抑制物如何协同作用引起休眠及休眠解除尚未研究, 还需试验。

参考文献:

[1] 颜启传. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.

[2] 陈发菊, 梁宏伟, 王旭, 等. 濒危植物巴东木莲种子休眠与萌发特性的研究[J]. 生物多样性, 2007(5): 492-499.

CHEN F J, LIANG H W, WANG X, *et al.* Seed dormancy and germination characteristics of *Manglietia patungensis*, an endangered plant endemic to China [J]. Biodiversity Science, 2007 (5): 492-499. (in Chinese)

[3] 郑健, 蒋鹤, 张晓萌, 等. 野皂荚种子萌发特性研究[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(6): 46-50.

ZHENG J, JIANG H, ZHANG X M, *et al.* Seed germination test on *Gleditsis microphylla* [J] Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28(6): 46-50. (in Chinese)

[4] 卞方圆, 苏建荣, 刘万德, 等. 云南红豆杉新采收种子的形态与离体胚的萌发特性[J]. 生态学报, 2015, 35(24): 8211-8220.

BIAN F Y, SU J R, LIU W D, *et al.* Morphology of fresh seeds and germination of in vitro embryos for *Taxus yunnanensis* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(24): 8211-8220. (in Chinese)

[5] 李兵兵, 魏小红, 徐严. 麻花秦艽种子休眠机理及其破除方法[J]. 生态学报, 2013, 33(15): 4631-4638.

LI B B, WEI X H, XU Y. The causes of *Gentiana straminea* Maxim seeds dormancy and the methods for its breaking [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(15): 4631-4638. (in Chinese)

[6] 沈琼桃. 濒危植物白桂木种子萌发生理研究[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(2): 111-113.

SHEN Q T. Germination physiology of endangered species *Artocarpus hypargyreus* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(2): 111-113. (in Chinese)

[7] 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.

SONG H X, LIU G L, GAO S P, *et al.* Effects of crude extracts of *Paeonia decomposita* seeds on germination and activities of antioxidant enzyme of *Brassica pekinensis* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(2): 370-374. (in Chinese)

[8] 周理平, 夏欢, 尹定森. 紫斑牡丹种子浸提液对油菜种子萌发的影响[J]. 安徽农业科学, 2011(25): 15245-15246.

[9] 洪德元, 潘开玉. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 48-65.

HONG D Y, PAN K Y. Taxonomical history and revision of *Paeonia* sect. *Moutan* (Paeoniaceae) [J]. Journal of Systematics and Evolution, 1999, 37(4): 48-65. (in Chinese)

[10] 郑相穆, 周阮宝, 谷丽萍, 等. 凤丹种子的休眠和萌发特性[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(4): 260-262.

ZHENG X M, ZHOU R B, GU L P, *et al.* The properties of dormancy and germination of *Paeonia suffruticosa* [J]. Plant Physiology Communication, 1995, 31(4): 260-262. (in Chinese)

[11] 景新明, 郑光华, 洪德元. 栽培牡丹的种子萌发和贮藏特性(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(4): 268-270.

JING X M, ZHENG G H, HONG D Y. Characteristic of germination and storage of seed in cultural *Paeonia suffruticosa* [J]. Plant Physiology Communication, 1995, 31(4): 268-270.

[12] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 206-206.

[13] 赵敏, 王炎. 膜荚黄芪种子萌发抑制物质特性的初步研究[J]. 中草药, 2001, 32(7): 69-72.

ZHAO M, WANG Y. Elementary studies on intrinsic inhibitor that retards germination of seed of *Astragalus membranaceus* [J]. Chinese Traditional & Herbal Drugs, 2001, 32(7): 69-72. (in Chinese)

[14] 杨期和, 叶万辉, 宋松泉, 等. 植物种子休眠的原因及休眠的多形性[J]. 西北植物学报, 2003, 23(5): 837-843.

YANG Q H, YE W H, SONG S Q, *et al.* Summarization on causes of seed dormancy and dormancy polymorphism [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23(5): 837-843. (in Chinese)

[15] AA 卡恩. 种子休眠和萌发的生理生化[M]. 北京: 农业出版社, 1989: 37-40.