

刘 行,李成忠,汤庚国,等. 紫斑牡丹种子的萌发特性[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):289-291.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.083

# 紫斑牡丹种子的萌发特性

刘 行<sup>1</sup>,李成忠<sup>1</sup>,汤庚国<sup>2</sup>,任 杰<sup>1</sup>,沈 超<sup>1</sup>

(1. 江苏农牧科技职业学院园林园艺系,江苏泰州 225300; 2. 南京林业大学森林资源与环境学院,江苏南京 210000)

**摘要:**以紫斑牡丹(*Paeonia rockii*)当年采摘种子为材料,研究赤霉素浓度和基质层积对其解除休眠的影响。结果表明:紫斑牡丹种子在 500 mg/L  $GA_3$  溶液浸泡 48 h 后于 25 ℃ 恒温中椰糠基质层积对下胚轴休眠解除效果最好;根长  $\geq 3$  cm 的生根种子在 300 mg/L  $GA_3$  溶液浸泡 1 h 后于 25 ℃ 恒温中湿沙层积最有利于上胚轴休眠的解除。因而紫斑牡丹种子的催芽处理可使种子生根速度加快和出苗率提高,从播种到发芽仅需 97 d 左右,明显缩短出苗时间。

**关键词:**紫斑牡丹;种子;休眠解除;赤霉素;基质

**中图分类号:** S685.110.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0289-02

紫斑牡丹(*Paeonia rockii*)为芍药科芍药属多年生落叶灌木,花大色艳,因花瓣基部有独特的色斑而得名,是中国特有的木本名贵花卉,具有很高的观赏和药用价值,并具有较为广泛的生态适应性,不仅耐旱、耐寒性较强,且能耐一定的湿热<sup>[1]</sup>。紫斑牡丹油用价值的发现使其作为一种新兴的木本油料作物得到广泛关注。牡丹油具备高产出(五年生苗产量可达 4 500 kg/hm<sup>2</sup>)、高含油率(含油率达 22%)、高品质(不饱和脂肪酸含量 92%)、低成本(耐旱耐贫瘠,一年种多年收)的特点;同时籽油具有高达 42% 的  $\alpha$ -亚麻酸,被称为植物脑黄金<sup>[2]</sup>。因而紫斑牡丹具有很高的经济价值和广阔的市场前景,同时对苗木的需求量也日趋剧增。播种繁殖的繁殖系数较大,可在短期内获得大量苗木。但紫斑牡丹种子具有双重休眠的特性,直接影响到出苗速度和出苗率<sup>[3]</sup>。因而研究依据播种繁殖的关键技术问题进行试验设计,筛选出最适宜催根催芽的处理方式,形成一整套系统化的紫斑牡丹催芽技术,以期对紫斑牡丹种苗的批量化生产提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以当年采摘的紫斑牡丹种子为试验材料,采摘于甘肃中川牡丹产业基地,置于 4 ℃ 冰箱低温处理 20 d 后,在江苏农牧科技职业学院综合实验室进行种子萌发试验。

#### 1.1 种子处理方法

牡丹种子具有双重休眠的特性,入冬种子即进入休眠状态,需在一定的低温条件下才能萌发生长,因而播种于自然环境下的种子当年仅发根不出芽,即秋季发根,春季出芽。针对牡丹种子双重休眠特性,试验设计分别对其进行激素及层积处理以达到解除下胚轴和上胚轴休眠的目的,并以此不做处理为对照。

收稿日期:2015-06-23

基金项目:江苏省大学生创新创业训练计划(编号:201412806003Y);江苏省林业三新工程项目(编号:LYSX[2014]13、LYSX[2014]03);江苏省泰州市科技计划(编号:TN201420)。

作者简介:刘 行(1983—),女,河北保定人,讲师,从事野生花卉引种栽培及园林植物抗性研究。E-mail:260322136@qq.com。

通信作者:李成忠。E-mail:lichengzhong@126.com。

1.1.1 上胚轴解除休眠试验 紫斑牡丹种子经过 0.3% 的  $KMnO_4$  消毒 30 min 后,再用蒸馏水冲洗干净,并分别以 100、300、500、700 mg/L 赤霉素( $GA_3$ )浸泡 48 h,以蒸馏水浸泡为对照(CK)。然后对浸泡处理后的种子分别采取不同基质进行层积处理(沙子层积、草炭层积、椰糠层积),基质均经高温灭菌,每个处理 100 粒种子,3 次重复。置于 25 ℃ 的恒温条件下,注意保湿,每天按时观察,对发根起始天数、发根历期、发根率、根长等进行记录及统计,以胚根伸出种皮 0.5 cm 视为种子发根。发根起始天数:从基质层积到第 1 粒种子发根所需要天数<sup>[4]</sup>。发根历期:即从第 1 粒种子发根至统计期间最后 1 粒种子发根所经历时间,发根高峰后连续 15 d 不再发根种子出现即为终止<sup>[4]</sup>。

1.1.2 下胚轴解除休眠试验 为筛选出解除上胚轴休眠效应的适宜根长,将萌发生根的紫斑牡丹种子分为 0.5 cm  $\leq$  根长 < 3 cm 和根长  $\geq 3$  cm 的种子分别进行催芽处理:以 100、200、300、400 mg/L 赤霉素浸泡 2 h 或 1 h 后,每个处理分为 3 份分别进行沙子、草炭和椰糠层积,置于 25 ℃ 恒温条件下,注意保湿,不作任何处理按根长要求分别继续恒温层积为 CK,均设 3 个重复。每天按时观察,统计各处理的发芽起始天数、发芽历期和发芽率,以胚芽出土 0.5 cm 视为种子发芽,统计及计算方法与发根试验相同。

采用 Excel 软件进行数据处理,SPSS 13.0 软件进行方差分析( $\alpha=0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对紫斑牡丹种子下胚轴休眠解除的影响

由表 1 可见,紫斑牡丹种子在相同赤霉素( $GA_3$ )处理浓度下,椰糠层积种子的发根起始时间最早,草炭次之,湿沙最晚;椰糠和草炭层积种子的发根历期较短,湿沙层积种子发根持续时间较长;相同  $GA_3$  处理下,椰糠层积的紫斑牡丹种子发根率、最长根长值、平均根长值均超过草炭和湿沙层积效果。可见紫斑牡丹种子经  $GA_3$  处理后用椰糠层积催根效果最好,草炭次之,湿沙最差,可能与椰糠基质较疏松、孔隙度大有关,利于种子发根及根的伸长生长,但保水能力较差。

表 1 不同处理对紫斑牡丹种子解除下胚轴休眠的影响

层积 基质	赤霉素 (GA <sub>3</sub> ) 浓度 (mg/L)	发根起 始天数 (d)	发根 历期 (d)	发根率 (%)	最长 根长 (cm)	平均 根长 (cm)
湿沙	CK	43a	68a	10.0e	6.10c	2.32d
	100	35b	45b	24.0d	5.90c	1.20e
	300	33c	42bc	36.3b	9.20b	3.18b
	500	28d	39c	46.0a	10.50a	6.41a
	700	23e	30d	32.0c	3.50d	2.90c
草炭	CK	37a	57a	15.0e	4.50e	2.07e
	100	29b	47b	44.0c	6.20c	3.77b
	300	27bc	41c	58.0b	9.60b	3.33c
	500	28c	35d	74.0a	10.40a	7.66a
	700	21d	28e	34.0d	5.60d	2.81d
椰糠	CK	33a	53a	16.7d	8.50bc	3.77e
	100	27b	47b	48.0c	8.10c	4.68d
	300	27b	41c	62.0b	10.00b	5.78b
	500	21c	31d	80.0a	13.00a	7.67a
	700	21c	27e	64.0b	6.00d	5.20c

注:结果为 3 次重复的平均值,同栏同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下表同。

在相同基质层积下,发根起始天数及发根历期均随 GA<sub>3</sub> 浓度的升高而缩短,GA<sub>3</sub> 500 mg/L 处理椰糠层积种子的生根起始时间为 21 d,发根全程仅为 52 d,比对照提前了 34 d,且发根率达到 80.0%,最长根长达 13.00 cm,平均根长达 7.67 cm,均与 CK 差异显著;GA<sub>3</sub> 700 mg/L 处理椰糠层积种子的生根起始时间为 21 d,发根历期仅为 27 d,发根率达到 64.0%,最长根长达 6.00 cm,平均根长达 5.20 cm,均与 CK 差异显著。由此可见,GA<sub>3</sub> 浓度的升高有利于打破紫斑牡丹种子下胚轴的休眠,缩短发根起始天数和发根历期,但以 GA<sub>3</sub> 500 mg/L 处理椰糠层积种子的发根率最高,因此 GA<sub>3</sub> 500 mg/L 为紫斑牡丹种子下胚轴休眠解除的最适宜浓度。

2.2 不同处理对紫斑牡丹种子胚轴休眠解除的影响

由表 2 可见,紫斑牡丹根长≥3 cm 种子的发芽起始时间明显早于根长为 0.5 ~ <3 cm 种子,而发芽历期、发芽率均明显高于根长为 0.5 ~ <3 cm 的种子。由此可见,根长达 3 cm 及以上的种子是上胚轴休眠解除的关键因素。浸泡 GA<sub>3</sub> 1 h 的种子发芽率整体高于浸泡 GA<sub>3</sub> 2 h 的种子。在相同处理下,不同基质层积对种子的发芽起始天数、发芽历期影响不大,但以湿沙层积种子的发芽率明显高于其他基质层积,草炭次之,椰糠最低。GA<sub>3</sub> 对紫斑牡丹上胚轴休眠解除效应有较大影响。GA<sub>3</sub> 处理后发芽起始天数、发芽历期、发芽率均显著优于 CK,尤以湿沙层积 300 mg/L GA<sub>3</sub> 处理 1 h 的紫斑牡丹种子发芽率高达 93.1%,而未经 GA<sub>3</sub> 处理的 CK 的发芽率为 20% ~ 35.4%。因此根长≥3 cm,湿沙层积 300 mg/L GA<sub>3</sub> 处理 1 h 的条件更有利于解除紫斑牡丹种子上胚轴休眠。

4 结论与讨论

自然条件下播种的紫斑牡丹种子休眠期长,萌发期需半年之久,且发根率很低。而用 500 mg/L GA<sub>3</sub> 浸泡 48 h 处理过并经椰糠层积处理后只需 21 d 左右开始生根,31 d 后生根率达到 80.0%,比 CK 草炭层积种子提前 12 d 生根,且 CK 53 d 后生根率仅为 16.7%;500 mg/L GA<sub>3</sub> 浸泡 48 h 处理并

表 2 不同处理对紫斑牡丹解除上胚轴休眠的影响

根长 (cm)	层积 基质	处理		发芽起 始天数 (d)	发芽 历期 (d)	发芽率 (%)	
		GA <sub>3</sub> 浓度 (mg/L)	时间 (h)				
0.5 cm≤根 长<3 cm	湿沙	CK	1	0	0	0	
		100	1	47	10	21.6	
		200	1	47	8	33.4	
		300	1	0	0	0	
		400	1	44	5	26.7	
	草炭	CK	1	0	0	0	
		100	1	0	0	0	
		200	1	57	5	12.2	
		300	1	0	0	0	
		400	1	47	2	11.9	
	椰糠	CK	1	0	0	0	
		100	1	0	0	0	
		200	1	47	4	10.7	
		300	1	47	2	14.3	
		400	1	0	0	0	
	根长≥3 cm	湿沙	CK	1	25a	45b	35.4d
			100	1	25a	51a	67.5c
			200	1	23a	52a	72.8b
			300	1	13b	32c	93.1a
			400	1	10c	22d	72.6b
草炭		CK	1	28a	40a	31.8d	
		100	1	25b	44a	65.3b	
		200	1	21c	42a	56.6c	
		300	1	17d	26b	90.5a	
		400	1	8e	26b	64.5b	
椰糠		CK	1	27a	37a	20.0e	
		100	1	25b	30b	30.7d	
		200	1	19c	30b	45.3c	
		300	1	15d	22c	64.2a	
		400	1	6e	13d	56.9b	
0.5 cm≤根 长<3 cm		湿沙	CK	2	0	0	0
			100	2	57	8	12.5
			200	2	0	0	0
			300	2	0	0	0
			400	2	0	0	0
	草炭	CK	2	0	0	0	
		100	2	0	0	0	
		200	2	47	4	14.8	
		300	2	0	0	0	
		400	2	0	0	0	
	椰糠	CK	2	0	0	0	
		100	2	0	0	0	
		200	2	0	0	0	
		300	2	0	0	0	
		400	2	0	0	0	
根长≥3 cm	湿沙	CK	2	42a	42a	18.0e	
		100	2	25b	37b	34.8d	
		200	2	25b	25c	51.5c	
		300	2	25b	22d	82.0a	
		400	2	10c	22d	70.8b	
	草炭	CK	2	47a	49a	12.5d	
		100	2	21b	44b	31.2c	
		200	2	13c	31c	33.7c	
		300	2	13c	27d	72.6a	
		400	2	13c	17e	63.0b	
	椰糠	CK	2	36a	47a	26.1b	
		100	2	21b	35b	25.7b	
		200	2	21b	32b	26.7b	
		300	2	13c	25c	49.8a	
		400	2	6d	21c	48.2a	

王芳,康超,李永霞,等.大鲵虹彩病毒套式 PCR 诊断方法的建立及应用[J].江苏农业科学,2016,44(8):291-293.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.084

# 大鲵虹彩病毒套式 PCR 诊断方法的建立及应用

王芳<sup>1</sup>,康超<sup>1</sup>,李永霞<sup>1</sup>,余波<sup>2</sup>,周思旋<sup>2</sup>

(1. 贵州省生物研究所,贵州贵阳 550009; 2. 贵州省畜牧兽医研究所,贵州贵阳 550005)

**摘要:**根据 GenBank 中大鲵虹彩病毒主要衣壳蛋白 MCP 基因序列,设计 2 对特异性的引物,通过对第 1 步和第 2 步 PCR 反应条件进行优化,建立大鲵虹彩病毒主要衣壳蛋白套式 PCR 诊断方法。结果表明,该方法重复性好,第 1 次 PCR 扩增敏感性达 10 pg/mL,第 2 次 PCR 敏感性是 1 fg/mL,对锦鲤疱疹病毒、斑点叉尾鲷病毒、嗜水气单胞菌、柠檬酸杆菌、黄杆菌 DNA 扩增结果均为阴性。表明建立的套式 PCR 方法适合于大鲵虹彩病毒临床样品的快速诊断。

**关键词:**大鲵虹彩病毒;套式 PCR;临床样品

**中图分类号:** S852.65<sup>+</sup>9.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0291-03

近年来,大鲵人工养殖发展迅速,工厂化水平较高,苗种之间流通比较多,加之今年大鲵价格下降,养殖户大量采购苗种,忽视引种检疫,造成疾病大量暴发。其中,大鲵虹彩暴发最为严重,在陕西、四川、贵州等地报道较多,该病毒可引起大鲵大面积死亡<sup>[1-3]</sup>。目前,大鲵虹彩病毒的疫苗还处于研究阶段,市面上还没有商品化的疫苗<sup>[4-6]</sup>。因此,对大鲵虹彩病

毒病的早期诊断及防治尤为重要。本研究根据 GenBank 中大鲵虹彩病毒主要衣壳蛋白 MCP 基因序列,设计 2 对特异性的引物,根据 PCR 反应条件优化,建立大鲵虹彩病毒主要衣壳蛋白套式 PCR 诊断方法,以期临床样品的快速诊断、防治大鲵虹彩病毒病提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

毒株、菌株和细胞:大鲵虹彩病毒、锦鲤疱疹病毒、斑点叉尾鲷病毒、嗜水气单胞菌、柠檬酸杆菌、黄杆菌均由贵州重大疫病监测防治重点实验室保存。鲤上皮瘤细胞购自上海拜力生物科技有限公司。

主要试剂:MIX PCR 酶、核酸染料、1×TAE 电泳缓冲液、DL2000 购自北京天根生物科技有限公司。细菌基因组 DNA

收稿日期:2016-02-29

基金项目:贵州省科学技术基金项目(编号:黔科合 J 字[2014]2115 号);贵州省科技厅农业攻关项目(编号:黔科合 NZ 字[2012]3023 号);2014 年省级财政渔业发展(大鲵产业)专项资金。

作者简介:王芳(1983—),女,贵州贵阳人,硕士,助理研究员,主要从事应用生物技术研究。E-mail:59825927@qq.com。

通信作者:余波,硕士,副研究员,主要从事预防兽医研究。E-mail:yubonky@163.com。

经草炭层积处理后需 28 d 左右开始生根,35 d 后生根率达到 74.0%,比 CK 草炭层积种子提前 9 d 生根,且 CK 57 d 后生根率仅 15.0%;500 mg/L GA<sub>3</sub> 浸泡 48 h 处理并经湿沙层积处理后需 28 d 左右开始生根,39 d 后生根率达到 46.0%,比 CK 湿沙层积种子提前 15 d 生根,且 CK 68 d 后发根率仅 10.0%。可推测在紫斑牡丹种子萌发生根过程中,内部发生一系列生理生化变化,大分子物质要降解为易被胚吸收的物质,为萌发生根提供营养,而用 GA<sub>3</sub> 浸泡处理后,可促进这一代谢过程。GA<sub>3</sub> 可激发异柠檬酸裂解酶活性,促使胚中脂类物质裂解为可溶性糖,同时也可促进蛋白酶的活性,使贮藏蛋白水解,从而为胚提供充足的营养物质,解除种子休眠,促胚生根。因而 GA<sub>3</sub> 浸泡处理可打破紫斑牡丹种子上胚轴的休眠。

在解除上胚轴休眠研究中,用 300 mg/L GA<sub>3</sub> 浸泡 1 h 后 25℃ 湿沙层积处理根长为 3 cm 以上(包括 3 cm)的紫斑牡丹种子效果最好,13 d 后第 1 粒种子发芽,32 d 后发芽率达到 93.1%。而关于紫斑牡丹上胚轴休眠的机制有待于进一步研究。为提高紫斑牡丹生产育苗的产量,建议用 500 mg/L GA<sub>3</sub> 浸泡 48 h 并于 25℃ 恒温条件下椰糠层积进行催根处理,并

于种子根长≥3 cm 后用 300 mg/L 赤霉素浸泡 1 h 后于 25℃ 恒温条件下湿沙层积进行催芽处理,可使种子生根速度加快和出苗率提高,从播种到发芽仅需 97 d 左右,与播种于自然条件下的种子相比显著缩短了出苗时间。

因紫斑牡丹油用价值的发现和推广,目前国内对油用牡丹方面的研究有所增加,但主要集中于油用牡丹栽培技术方面的研究,而对油用牡丹种子发芽特性方面的研究报道甚少。本研究对紫斑牡丹种子萌发试验进行了系统研究,虽可对生产育种提供一定的技术支撑,但针对紫斑牡丹种子休眠机制和育苗方法有待于进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 成仿云,李嘉钰,陈德忠,等.中国紫斑牡丹[M].北京:中国林业出版社,2005:1-52.
- [2] 李育材.牡丹籽油,一种有益健康的高端食用油[N].中国绿色时报,2013-03-07(02).
- [3] 倪圣武,王莲英.紫牡丹种子特性及其发芽试验初探[C].中国园艺学会观赏园艺专业委员会学术年会,2008:189-192.
- [4] 刘秀贤,张艳丽,马宏,等.滇牡丹种子休眠解除效应研究[J].种子,2013,32(2):9-12.