

孙宁阳,张宏川,王 蕾,等.不同处理对藏药波棱瓜种子萌发的影响[J].江苏农业科学,2017,45(7):143-145.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.07.038

不同处理对藏药波棱瓜种子萌发的影响

孙宁阳,张宏川,王 蕾,符小红,顾 健

(西南民族大学民族医药研究院,四川成都 610041)

摘要:为了摸清不同浸种时间、预处理和不同试剂对波棱瓜种子萌发的影响,在种子培养箱中模拟种子萌发环境,研究不同浸种时间(3、6、9、12、15、18、21、24、27 h)、不同预处理(低温、高温、超声波)和不同质量分数的赤霉素(GA_3 , 50~200 mg/L)、6-苄基腺嘌呤(6-BA, 10~40 mg/L)、硝酸钾(KNO_3 , 1 000~4 000 mg/L)及3种试剂混合(6-BA + GA_3 + KNO_3)浸种方法对波棱瓜种子萌发的影响。结果表明,在不同浸种时间下,波棱瓜种子发芽率、发芽势差异显著,最佳浸种时间24 h;不同预处理都可以促进种子萌发,在40 kHz强度的超声波处理60 min后种子萌发有明显的提高;不同质量浓度的 KNO_3 溶液和赤霉素 GA_3 溶液都能促进波棱瓜种子萌发,6-BA溶液质量浓度升高对波棱瓜种子发芽有一定的抑制作用;混合试剂对波棱瓜种子萌发率不如单一试剂高。波棱瓜的种子采用40 kHz强度的超声波处理60 min后,用1 000 mg/L KNO_3 溶液浸泡24 h处理效果最好,发芽率为62.5%。

关键词:波棱瓜;种子;萌发;浸种时间;预处理; GA_3 ;6-BA; KNO_3

中图分类号: S567.041 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)07-0143-03

波棱瓜为葫芦科波棱瓜属植物,分布于中国青藏高原东部的四川、云南、西藏等地^[1]。波棱瓜(*Herpetospermum pedunculosum*)种子具有清胆热、泻肝火、清热解毒的功效,用于治疗肝胆及消化不良等疾病,是藏医常用药^[2]。近些年来,中医药、藏医药飞速发展,波棱瓜在中医临床、保健食品等方面也有开发的价值,这些因素导致波棱瓜种子的用量日益增加。波棱瓜原植物在青藏高原东南部广泛分布,但是由于蕴藏量低、自然条件下产量低等原因,远不能满足市场需求^[3]。

植物在生长过程中重要的一个环节就是种子萌发^[4]。实生苗的数量及成活率是植物种群数量的决定性因素^[5]。由于波棱瓜种子种皮硬,有发达的角质层,具有较强的休眠性,发芽率极低,因此存在浸种催芽过程中发芽率低、不易发芽、出芽不整齐、人工栽培困难等问题,这些问题对资源保存造成潜在危机^[6]。研究表明,不同浸种时间、预处理方式及不同质量浓度的 GA_3 、6-BA、 KNO_3 溶液的处理都可有效打破种子的休眠,可能是由于其软化种皮,提高种子的通透性并降低种子萌发抑制物的含量,提高了种子活力^[7-12]。因此,本试验以四川省甘孜州泸定县波棱瓜种植基地的种子为试验材料,研究不同浸种时间、不同预处理以及不同质量浓度的试剂处理对波棱瓜种子萌发的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

波棱瓜种子于2014年10月购于四川省甘孜州泸定县波棱瓜种植基地,分别用游标卡尺随机测定30粒成熟种子的纵轴和横轴长度,并分别求得平均值,种子质量是用电子分析天平随机称取100粒×8组,并求得平均值。

1.2 室内萌发试验

依次进行不同浸种时间、不同预处理和不同试剂处理对波棱瓜种子萌发的影响试验。试验均在培养箱中进行,种子均在萌发试验前用3% K_2MnO_4 溶液消毒15 min,然后用蒸馏水冲洗干净后,按照《国际种子检验规程》和《农作物种子检验规程》^[13]中规定的滤纸培养皿发芽法进行发芽试验,将处理后的种子均匀置于铺有2层滤纸的直径为9 cm的玻璃培养皿中,以蒸馏水保持其湿润。以2层滤纸作为发芽床,置于玻璃培养皿(直径11 cm)中,发芽过程中保持滤纸湿润,种子胚根长度与种子长度相当即为萌发开始,每天记录萌发的种子数,以连续3 d不再有新的种子萌发为试验结束标志。

1.2.1 浸种时间和种子萌发的关系 选取饱满的波棱瓜种子100粒,置于25℃培养箱中进行不同浸种时间试验,每隔3 h取出种子,用滤纸吸干种子表面的水分,然后放入培养箱中,模拟光强度为3 000 lx,连续光照10 h,再进行14 h黑暗处理进行萌发试验,每天定时统计萌发数,重复3次试验。

1.2.2 不同预处理和种子萌发的关系 对照(CK):将50粒种子放于铺有双层滤纸的培养皿中,加蒸馏水置于25℃培养箱内,模拟光强度为3 000 lx,连续光照10 h,再进行14 h黑暗处理,进行萌发试验,每天定时统计萌发数,重复3次试验。
超声波预处理:将种子放于盛有蒸馏水的烧杯中,将超声仪调至40 kHz的强度,超声波处理60 min,处理后用清水冲洗,按对照的方法进行萌发试验。
热水处理:将种子分别放入50、

收稿日期:2016-12-06

基金项目:国家自然科学基金(编号:81274168,81573563);西南民族大学研究生创新性科研项目(编号:CX2016SZ021);四川省应用基础研究项目(编号:2012JY0027)。

作者简介:孙宁阳(1990—),男,吉林白城人,硕士研究生,主要从事中药及民族药物开发与研究。E-mail:1334396228@qq.com。

通信作者:顾 健,教授,主要从事中药及民族药物开发与研究。E-mail:gujiancd@163.com。

70 ℃ 热水中,浸泡 30 min 后,按对照的方法进行萌发试验。
低温处理:将种子放于 2~8 ℃ 冰箱内,放置 5 d 后取出种子,用蒸馏水冲洗,按对照的方法进行萌发试验。

1.2.3 不同试剂处理和种子萌发的关系 将 100 粒波棱瓜种子分别浸入 KNO₃ 溶液(1 000、2 000、4 000 mg/L)、GA₃ 溶液(50、100、200 mg/L)和 6-BA 溶液(10、20、40 mg/L)中 25 ℃ 下浸种 24 h。浸种后用蒸馏水冲洗干净,模拟光强度为 3 000 lx,连续光照 10 h,再进行 14 h 黑暗处理,进行萌发试验,每天定时统计萌发数,重复 3 次试验。

1.3 种子萌发的测定及计算方法

种子萌发指标的测定及计算参照付菁等的方法^[14]进行。种子发芽率指萌发种子数占参试种子总数的比例,可以表示群体种子形成幼苗的潜势,计算公式:发芽率(GR)=发芽种子数/供试种子数×100%;发芽势指种子发芽达到高峰时的萌发率,计算公式:发芽势(GP)=发芽高峰期发芽的种子数/供试种子数×100%。

1.4 数据处理

所有数据均采用“平均值±标准差”表示,运用 SPSS 18.0 进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 种子大小和千粒质量

波棱瓜种子为淡褐色,种皮粗糙,较坚硬,种子饱满,长(13.6±0.94)mm、宽(5.6±0.46)mm,千粒质量(10.2±0.49)g。

2.2 浸种时间对波棱瓜种子萌发的影响

波棱瓜种子的萌发与浸种时间有密切关系。表 1 结果显示,波棱瓜种子发芽率、发芽势在不同浸种时间下表现出显著差异($P<0.05$)。3 h 条件下波棱瓜种子的发芽率仅为 8%,24 h 条件下则达到 30%,是 3 h 条件下的 3.75 倍。综上可知,在浸种 24 h 条件下,波棱瓜种子的发芽率均高于其他浸种时间,发芽势在 24 h 和 27 h 浸种时间处理间仅差 1 百分点,综合考虑波棱瓜种子的最适宜浸种时间为 24 h。

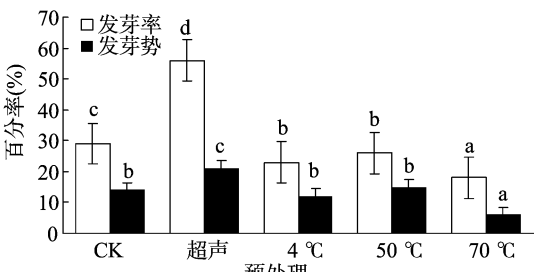
表 1 不同浸种时间对种子萌发影响

浸种时间(h)	发芽势(%)	发芽率(%)
0	2a	8a
3	3a	8a
6	3a	10a
9	6b	14a
12	6b	20b
15	8b	22b
18	9b	26b
21	10b	28b
24	14c	30b
27	15c	29b

注:同列数据后不同小写字母表示显著差异($P<0.05$)。下同。

2.3 不同预处理对种子发芽的影响

从图 1 可以看出,不同预处理对波棱瓜种子的发芽率和发芽势的影响存在显著差异($P<0.05$),其中超声波处理后种子发芽率显著提高,为 56%;其次是对照组和 50 ℃ 热水处理的种子,发芽率分别为 29%、26%;再次是 4 ℃ 低温和 70 ℃ 处理后的发芽率仅为 23%、18%。说明波棱瓜种子萌



柱上不同小写字母表示不同预处理间发芽率或发芽势差异显著($P<0.05$)

图 1 不同预处理对种子萌发的影响

发预处理应选择 40 kHz 强度的超声波处理 60 min。

2.4 不同试剂处理对种子萌发的影响

2.4.1 KNO₃ 对波棱瓜种子萌发的影响 从表 2 可知,不同质量浓度 KNO₃ 溶液处理对波棱瓜种子的萌发有一定的促进作用。方差分析结果表明,不同质量浓度的 KNO₃ 溶液对波棱瓜种子发芽势和发芽率的影响有显著差异。在本试验条件下,波棱瓜种子的最适质量浓度是 1 000 mg/L KNO₃,处理后发芽势和发芽率分别比对照提高 16、33.5 百分点,与对照差异显著。随着 KNO₃ 质量浓度的提高,发芽率逐渐降低,当质量浓度达到 4 000 mg/L 时,发芽率比对照提高 11 百分点。

表 2 不同质量浓度的 KNO₃ 溶液对种子萌发的影响

药剂	质量浓度(mg/L)	发芽势(%)	发芽率(%)
KNO ₃	1 000	30a	62.5a
	2 000	26b	47.5a
	4 000	18c	40.0b
CK		14d	29.0c

2.4.2 GA₃ 对波棱瓜种子萌发的影响 从表 3 可知,不同质量浓度 GA₃ 溶液处理对波棱瓜种子的萌发有一定的促进作用。方差分析结果表明,溶液为 50、200 mg/L 的溶液对波棱瓜种子发芽势和发芽率的影响有显著差异。在本试验条件下,波棱瓜种子的最适发芽质量浓度为 50 mg/L,在该质量浓度下处理的种子,发芽势和发芽率分别比对照提高 12、27 百分点,并且发芽率与其他质量浓度处理差异显著。

表 3 不同质量浓度的 GA₃ 溶液对波棱瓜种子萌发的影响

药剂	质量浓度(mg/L)	发芽势(%)	发芽率(%)
GA ₃	50	26a	56.0a
	100	17b	32.5c
	200	26a	34.5b
CK		14b	29.0c

2.4.3 6-BA 对波棱瓜种子萌发的影响 从表 4 可知,10、20 mg/L 质量浓度 6-BA 溶液对波棱瓜种子发芽率和发芽势影响不显著,而 40 mg/L 6-BA 溶液显著抑制了波棱瓜种子的发芽率和发芽势。波棱瓜种子在 10 mg/L 6-BA 处理时发芽最好,处理后发芽率比对照提高 8 百分点。较低质量浓度的 6-BA 对波棱瓜种子萌发有一定程度的促进作用,但较高质量浓度有一定的抑制作用。

2.4.4 3 种试剂混合处理对波棱瓜种子萌发的影响 从表 5 可知,3 种试剂混合处理也能使波棱瓜种子发芽率有不同幅度提高。其中混合 KNO₃+6-BA 试剂处理后的种子发芽率为 42.5%,与对照相比差异显著,但是低于 KNO₃ 单一试剂处

表 4 不同质量浓度的 6-BA 溶液对波棱瓜种子萌发的影响			
药剂	质量浓度 (mg/L)	发芽势 (%)	发芽率 (%)
6-BA	10	14b	37a
	20	16b	32a
	40	6a	27b
CK		14b	29a

理;其次是混合 $\text{KNO}_3 + \text{GA}_3$ 试剂处理后的种子发芽率为 38.5%,与对照差异显著;最后混合 6-BA + GA_3 和 $\text{KNO}_3 + \text{GA}_3 + 6\text{-BA}$ 试剂处理后的种子发芽率分别为 31.2% 和 30.0%,与对照差异不显著。

表 5 混合试剂对波棱瓜种子萌发的影响			
药剂		发芽势 (%)	发芽率 (%)
500 mg/L $\text{KNO}_3 + 5\text{ mg/L } 6\text{-BA}$		24.0a	42.5a
500 mg/L $\text{KNO}_3 + 25\text{ mg/L } \text{GA}_3$		16.0b	38.5b
25 mg/L $\text{GA}_3 + 5\text{ mg/L } 6\text{-BA}$		16.0b	31.2c
333.3 mg/L $\text{KNO}_3 + 16.7\text{ mg/L } \text{GA}_3 + 3.3\text{ mg/L } 6\text{-BA}$		20.0a	30.0c
CK		14.0b	29.0c

3 结论与讨论

3.1 种子最佳的浸种时间

本试验结果表明,不同浸种时间对波棱瓜种子发芽率的影响存在显著差异,浸种 24 h 发芽率最好,浸种时间过短或过长对种子萌发都有一定的影响。由于种子在发芽过程中要吸收水分,用来活化种胚内部的蛋白质、酶等物质,因此如果浸种时间太短,吸水不足,细胞器活化慢,种子萌动受到影响,从而不利于发芽^[15];如果浸种时间过长,水中氧气少会导致种子无氧发酵现象的发生,造成种子出苗率偏低^[16]。

3.2 种子最佳的预处理

本研究表明,超声波处理可以促进种子萌发,因为超声波可以使种子表面的蜡质层变薄或者使蜡质层与种皮分离,提高种子的通透性,打破种子休眠。有文献报道长鄂鸡眼草种子用 80 ℃ 热水处理时对种子损伤较大,以 50 ℃ 保温 15 min 或是 60 ℃ 保温 10 min 最好。本研究对波棱瓜种子进行热水处理,种子发芽率都不如超声波处理的高,可能是因为 50 ℃ 热水不能打破种子的休眠而 70 ℃ 热水又会破坏种子内的活性物质,所以预处理最好的方式就是用 40 kHz 强度的超声波处理 60 min。

3.3 浸泡种子的最佳试剂

1 000 mg/L KNO_3 可以促进波棱瓜种子萌发,其促进作用可能是因为在该质量浓度下有效利用的钾离子较多,种子在发芽的过程中需要大量的蛋白质,而钾离子能促进蛋白质的合成,当钾离子充足时,形成的蛋白质较多,从而为种子的发芽提供所需的各种蛋白质,同时在细胞内钾离子可作为丙酮酸激酶、果糖激酶、苹果酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、淀粉合成酶等 60 多种酶的激活剂。

低质量浓度的 GA_3 对种子萌发有一定的促进作用,可能是因为低质量浓度 GA_3 可有效解除波棱瓜种子的休眠。 GA_3 的加入可有效改变种子内的激素比例,促使本来处于休眠状态的种胚恢复伸长生长的能力,促使种子萌发。

6-BA 是细胞分裂素,用其浸种能促进种子萌发,而用高质量浓度的 6-BA 浸泡波棱瓜种子却抑制了种子的萌发,可能的原因是波棱瓜种子自身含有较高 6-BA,处理后使其对种子萌发产生抑制;种子中的内含物与 6-BA 作用,产生对种子萌发抑制的中间产物,具体机理尚不清楚,有待进一步研究。

3 种试剂混合处理对种子萌发都有不同程度的促进作用,其中有硝酸钾组的混合试剂对种子的萌发比其他几组好,3 种试剂混合不如 2 种试剂混合的效果好,可能是因为混合试剂中硝酸钾所占的质量浓度高,而硝酸钾又是种子萌发过程中必需的物质,所以有硝酸钾组的种子萌发率高,至于几种试剂在种子萌发过程是否有相互作用,有待进一步研究。

综上所述,不同预处理对波棱瓜种子都有不同程度的促进作用,但用 40 kHz 强度的超声波处理 60 min 效果最好;不同质量浓度 KNO_3 及低质量浓度的 GA_3 试剂对波棱瓜种子均有一定的有促进作用,但高质量浓度的 6-BA 对种子的萌发有一定的抑制作用。在种植过程中用 40 kHz 强度的超声波处理 60 min,然后 1 000 mg/L KNO_3 浸种 24 h,可以有效打破波棱瓜种子的休眠,能够提高种子的发芽率。

参考文献:

[1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(藏药):第 1 册[S]. 北京:人民出版社,1995:64.

[2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草:第 5 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:542.

[3] 卢杰,兰小中,罗建. 林芝地区珍稀濒危藏药植物资源调查与评价[J]. 资源科学,2011,33(12):2362-2369.

[4] 焦菊英,王万中,李靖. 黄土高原林草水土保持有效盖度分析[J]. 植物生态学报,2000,24(5):608.

[5] 杨期和,叶万辉,张云,等. 锥栗种子萌发和储藏特性的初步研究[J]. 北京林业大学学报,2005,27(1):192-195.

[6] 王宏霞. 波棱瓜种子萌发特性和组织培养研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2008:23-28.

[7] 杨晓红,韩苗苗,牛言心. 预处理方式对不同类型二色胡枝子种子萌发影响[J]. 种子,2016,35(6):36-40.

[8] 毛祝新,张莹,韩桂军,等. 不同处理方法对 9 种葱属种子萌发的影响[J]. 中国农学通报,2016,32(24):109-112.

[9] 王红俊,陈志飞,张莹,等. 浸种时间和浸种剂对草地早熟禾种子发芽的影响[J]. 草业科学,2014,31(11):2095-2104.

[10] 杨艺,常丹,王艳,等. 茉莉酸与茉莉酸甲酯预处理对干旱胁迫下棉花种子萌发和种苗生理特性的影响[J]. 西北植物学报,2015,35(2):302-308.

[11] 杨义波,宋国民,于学. 不同化学药剂和植物激素对日本绣线菊种子发芽的影响[J]. 长春大学学报(自然科学版),2010,20(2):42-44.

[12] 张春平,何平,何俊星,等. 不同处理对药用紫苏种子萌发特性的影响[J]. 中草药,2010,41(8):1361-1365.

[13] 国际种子检验协会. 国际种子检验规程[M]. 颜启傅,毕辛华,译. 北京:科学技术文献出版社,1976:89-99.

[14] 付菁,王辉,李永兵. 子午岭辽东栎种子萌发影响因素实验研究[J]. 甘肃农业大学学报,2009,44(1):123-126.

[15] 吴晓亮,辛萍萍,张志娥,等. 水稻种子室温贮藏最适含水量及其热稳定蛋白的研究[J]. 中国农业科学,2006,39(11):2214-2219.

[16] 严见方,张移峰. 浸种方法对杂交水稻种子发芽率的影响[J]. 种子科技,2000(6):341-342.