

刘 飞,庞晶晶,张克亮. 加拿大红叶紫荆种子休眠与萌发特性[J]. 江苏农业科学,2023,51(3):161-165.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.03.024

加拿大红叶紫荆种子休眠与萌发特性

刘 飞¹, 庞晶晶², 张克亮³

(1. 徐州生物工程职业技术学院, 江苏徐州 221006; 2. 江苏省宝应县农业农村局, 江苏宝应 225819;

3. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

摘要:加拿大红叶紫荆是早春重要的观花树种,其种子的休眠特性,严重阻碍了该物种的开发利用。通过对新成熟加拿大红叶紫荆种子形态结构、种子发芽率、种子吸水率以及打破休眠的不同方式(损伤种皮、冷层积、浓硫酸和湿热处理)的试验,研究加拿大红叶紫荆种子的休眠类型及打破方式。结果表明,新成熟的加拿大红叶紫荆种子不能吸水;划破种皮后可将萌发率提高到 12%,说明种子具有物理和生理休眠的双重属性;通过划破种皮、30 min 的浓硫酸处理或 5 min 80 ℃温水处理均可以有效打破物理休眠,而通过 3 个月的 4 ℃冷层积或 500 mg/L 赤霉素处理可以有效打破生理休眠。综上所述,损伤种皮+低温层积或赤霉素处理的方式可有效打破加拿大红叶紫荆种子的休眠。

关键词:加拿大红叶紫荆;种子萌发;复合休眠;划破种皮;低温层积

中图分类号:S184 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)03-0161-04

种子是农业生产的基础,在植物种质资源保存和遗传多样性方面发挥着重要的作用^[1-2]。由于长期的进化适应,生长在不同生境中的植物具有不同的种子休眠特性^[3-5]。从生物学角度来说,休眠可以降低种子在冬季萌发而使幼苗冻死的风险^[1,4]。在生产上,如果种子具有休眠,常常会导致出苗率低的问题^[6]。通过对种子休眠和萌发的研究,可以增加对植物适应环境方式的了解,还可以为农业生产提供科学理论指导和技术保障。

加拿大红叶紫荆(*Cercis canadensis* ‘Forest Pansy’)为豆科紫荆属加拿大紫荆的栽培品种^[7]。它初春花叶同放,叶片鲜红,花色丰富、色彩鲜艳,在园林造景时具良好的观赏价值^[8]。此外,该物种具有较强的抗寒和耐碱盐能力,适合在我国大部地区种植^[9]。种子繁殖是加拿大红叶紫荆的主要繁殖方法之一,然而,因为其种子的休眠特性,导致了萌发周期较长,出苗率低,严重阻碍了加拿大红叶紫荆进一步的开发利用^[7]。目前,对加拿大红叶紫荆的研究主要集中在植株对干旱胁迫的响应^[10]、组织培养^[11]、嫁接育苗^[12]等方面,而在加拿大红叶紫

荆种子萌发特性方面的研究很少。鉴于此,本试验以加拿大红叶紫荆种子为研究对象,通过调查种子吸水率及温度和光照对萌发的影响,确定种子的休眠类型。在此基础上,通过低温层积、热水、浓硫酸处理等方式找出打破种子休眠的最佳方法,以期降低加拿大红叶紫荆育苗成本提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新成熟的加拿大红叶紫荆种子于 2020 年 11 月购自宿迁蓝海种业有限公司。购买的种子保存在 -18 ℃条件下备用。

1.2 试验方法

1.2.1 种子大小、质量和含水量的测定 随机选取加拿大红叶紫荆的种子 10 粒,用游标卡尺分别测量种子的长、宽、厚。另外,使用分析天平测定种子质量,随后将种子放入 75 ℃的烘箱中,48 h 后测量种子干质量与含水量。

1.2.2 种子的吸水特性 随机选取加拿大红叶紫荆种子 200 粒,分成 8 组,每组 25 粒。用手术刀划破其中 4 组的种皮,称量并记录 8 组种子的质量。随后,将 8 mL 蒸馏水加入到直径为 10 cm 的培养皿中,放入种子,分别进行 0、2、4、6、8、10、12、24、48、64 h 的吸胀处理,随后取出种子擦干并称质量,称完放回培养皿。计算种子吸水率:

$$W_r = (W_f - W_i) \div W_i \times 100\%$$

收稿日期:2022-03-31

基金项目:江苏省苏北科技专项(编号:XZ-SZ202001)。

作者简介:刘 飞(1976—),女,山东沂南人,硕士,副教授,主要从事农业生产应用研究。E-mail:863492957@qq.com。

通信作者:张克亮,博士,讲师,主要从事生活史对策及进化生态学研究。E-mail:zhangkeliang@yzu.edu.cn。

式中: W_t 代表种子吸水率; W_i 为种子吸收特定时间的水分后的质量; W_0 代表最初种子质量。

1.2.3 新成熟种子的萌发特性 在直径为 10 cm 的培养皿中加入 8 mL 蒸馏水, 并放入种子。将培养皿放置在 5/15 (黑暗 12 h/光照 12 h, 下同)、10/20、15/25、20/30 °C 的培养箱内。在 12 h 光照—12 h 黑暗 (以下简称光照) 和 24 h 全黑暗下进行试验。全黑暗指的是将培养皿放入不透光的黑色袋中。萌发测试 30 d 后, 计算最终萌发率。

1.2.4 划破种皮对种子萌发的影响 随机选取 8 组种子, 每组种子 25 粒, 其中 4 组种子用手术刀划破种皮。然后, 种子置于 5/15、10/20、15/25、20/30 °C 的黑暗和光照条件下萌发。萌发试验进行 30 d, 试验结束后, 统计最后的种子萌发率。

1.2.5 划破种皮 + 冷层积处理对种子萌发的影响 将用蒸馏水湿润好的干净沙子放置在直径为 20 cm、深为 10 cm 的铁盒底部, 沙子上平铺 2 层滤纸。随机选取 1 200 粒划破种皮的种子放在滤纸上, 盖紧铁盒, 然后放在 4 °C 的冰箱内, 层积 3 个月。每个月取出 400 粒种子, 分别在 5/15、10/20、15/25、20/30 °C 条件下进行萌发试验。每天观察并记录 1 次萌发情况。萌发测试 30 d 后, 计算最终萌发率。

1.2.6 划破种皮 + 赤霉素 (GA) 处理对种子萌发的影响 在直径为 10 cm 的培养皿里铺 2 层滤纸, 随后放入划破种皮的加拿大红叶紫荆种子。每个培养皿中分别加入 8 mL 浓度为 0 (蒸馏水对照)、250、500、1 000 mg/L 的赤霉素溶液。随后在 5/15、10/20、15/25、20/30 °C 条件下进行萌发试验。萌发测试 30 d 后, 计算最终萌发率。

1.2.7 浓硫酸 + 冷层积处理对种子萌发的影响 将种子放入含有 50 mL 浓硫酸的烧杯中分别处理 15、30、45、60 min, 完成后倒入土壤筛中, 用自来水冲洗 10 min, 置于吸水纸上晾干。然后将处理不同时间的种子 (以未经浓硫酸处理的种子为对照) 放在 4 °C 的冰箱内层积 3 个月。在层积结束后, 于 15/25 °C 条件下进行萌发试验。萌发测试 30 d 后, 计算最终萌发率。

1.2.8 湿热 + 冷层积处理对种子萌发的影响 分别将种子置于 65、80、95 °C 的水浴锅内处理 5 min, 然后将种子置于 4 °C 的冰箱内层积 3 个月。在层积结束后, 于 15/25 °C 条件下进行萌发试验。萌发测试 30 d 后, 计算最终萌发率、死亡率和休眠率。

1.3 数据分析

所有数据均以“平均值 ± 标准误”的形式表示。萌发试验均设置了 4 次重复, 每次重复 25 粒种子。每天观察并记录 1 次萌发情况。采用方差分析比较不同处理对加拿大红叶紫荆种子萌发率的影响。如果方差分析结果存在显著差异, 则用 Duncan's 法进行多重比较。所有数据分析均在 SPSS 21.0 中进行。

2 结果与分析

2.1 种子大小、质量和含水量

新成熟的加拿大红叶紫荆种子为阔卵圆形, 扁平, 黑褐色, 表面光滑。种子千粒质量为 (20.564 ± 0.862) g。种子长度、宽度、厚度分别为 (4.422 ± 0.113) 、 (2.691 ± 0.112) 、 (1.153 ± 0.040) mm。种子含水量为 8.47%

2.2 种子吸水特性

在 100 粒种皮未破坏的加拿大红叶紫荆种子中, 只有 4 粒种子可以吸水 (体积增大)。划破种皮后, 种子的吸水速率即吸水量迅速增加。种子吸水速率在前 8 h 最快, 吸水率达 $(71.258 \pm 1.984)\%$; 24 h 后种子吸水达到饱和, 质量几乎不再增加, 此时划破种皮的加拿大红叶紫荆种子和完整种子的吸水率分别为 $(79.067 \pm 2.528)\%$ 、 $(3.467 \pm 2.537)\%$ (图 1)。

2.3 新成熟种子的萌发特性

无论在光照条件还是黑暗条件下, 新成熟的加拿大红叶紫荆种子在 30 d 内不同温度、光照条件下的萌发率均小于 5%。方差分析结果表明, 温度 ($P=0.070$)、光照 ($P=1.000$) 及二者的交互作用 ($P=0.602$) 对种子萌发率影响不显著。

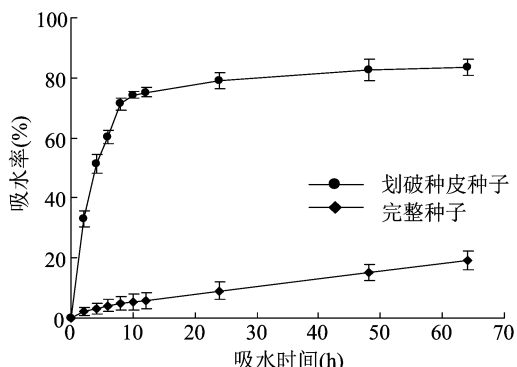
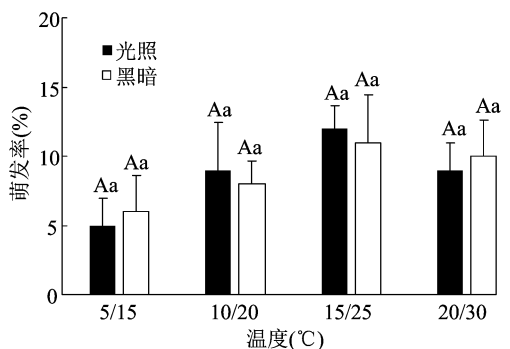


图1 完整和划破种皮加拿大红叶紫荆种子的吸水特性

2.4 划破种皮对种子萌发的影响

种子萌发率在划破种皮后显著提高 ($P <$

0.05), 然而, 最高萌发率仅有 12% (图 2)。方差分析结果表明, 温度 ($P=0.137$)、光照 ($P=0.999$) 及二者的交互作用 ($P=0.955$) 对划破种皮的加拿大红叶紫荆种子萌发率影响不显著。



图中不同的大写、小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)、极显著 ($P<0.01$)。图 4、图 5 同

图2 光照、温度对划破种皮加拿大红叶紫荆种子萌发率的影响

2.5 划破种皮 + 冷层积处理对种子萌发的影响

通过划破加拿大红叶紫荆种子的种皮 + 冷层积处理能够有效提高萌发率 (图 3), 且种子萌发率随层积时间的延长为逐渐增加。3 个月的冷层积可以使种皮被切的种子发芽率达到 80% 以上。方差分析结果表明, 萌发温度 ($P<0.001$)、低温层积时间 ($P<0.001$) 以及二者的交互作用 ($P<0.05$) 对种子萌发率具有显著影响。

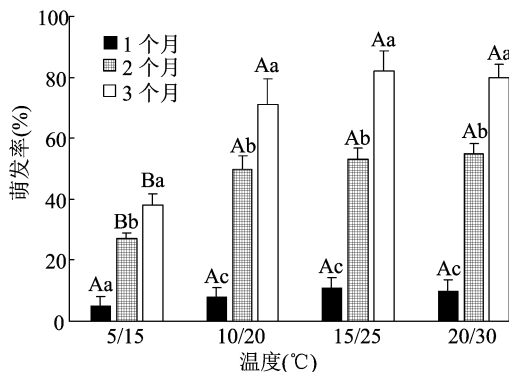


图3 划破种皮+冷层积处理对加拿大红叶紫荆种子萌发率的影响

2.6 划破种皮 + 赤霉素处理对种子萌发的影响

划破种皮 + 赤霉素处理能够显著提高加拿大红叶紫荆种子的萌发率 ($P<0.001$) (图 4)。其中 250、500 mg/L 赤霉素处理的效果 > 1 000 mg/L 的处理效果。

2.7 浓硫酸 + 冷层积处理对种子萌发的影响

浓硫酸处理对加拿大红叶紫荆种子的萌发率影响显著 ($P<0.001$) (图 5)。在 0 ~ 30 min 内, 随着处理时间的延长, 萌发率也逐渐提高, 而在 30 min 之后, 萌发率则随着处理时间的延长而开始下降。

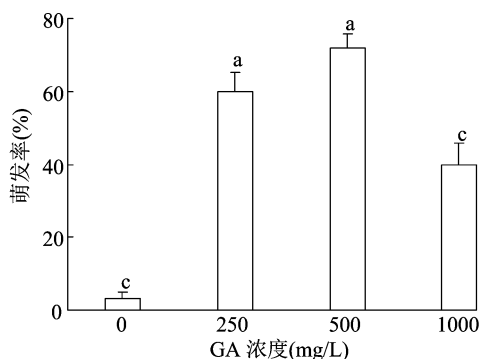


图4 划破种皮+赤霉素处理对加拿大红叶紫荆种子萌发率的影响

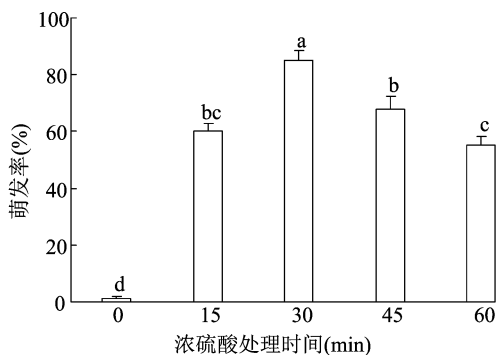


图5 浓硫酸+冷层积处理对加拿大红叶紫荆种子萌发率的影响

2.8 湿热 + 冷层积处理对种子萌发的影响

湿热 (温水) 处理可以显著提高种子的萌发率。随着水温的升高, 休眠种子的比例逐渐减小, 但是种子的死亡率也逐渐增加 (图 6)。

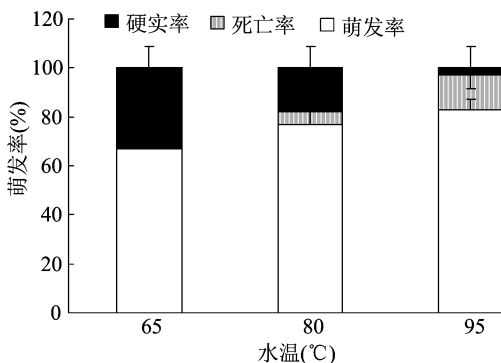


图6 湿热+冷层积处理对加拿大红叶紫荆种子萌发率的影响

3 讨论与结论

Baskin 等将种子休眠分成物理、生理、形态、形态生理和复合 5 种休眠类型^[13]。其中, 具有物理休眠的种子通常具有较厚的栅栏层, 导致种子不能吸水^[14]。生理休眠是由于胚的生长势弱或种子内部含有的萌发抑制物质引起的^[15-16]; 具有形态休眠的种子胚通常较小且发育不完全, 需要在种子脱落后进行发育成熟^[13]; 形态生理和复合休眠分别指种子

具有物理 + 生理和生理 + 形态的休眠类型^[5]。

本研究中,新成熟的加拿大红叶紫荆种子在各个温度条件下的萌发率均 < 5%,表明它们的种子具有休眠特性。未划破种皮的种子在吸水 72 h 后,种子质量仅增加了 3.4%,这是由于在试验所选取的 100 粒种子中,有 4 粒种子可以吸水,而剩余的 96 粒种子均不能吸水。在划破种皮后,种子的质量迅速增加,在吸水 2 h 后,种子的质量增加了 33%,表明加拿大红叶紫荆休眠具有物理休眠的特性。在用手手术刀划破种皮后,种子虽然能正常吸水,但是最高萌发率只有 12%,说明除物理休眠外,种子还具有其他的休眠类型。将损伤种皮后的种子经过不同时间的冷层积或不同浓度的赤霉素处理后,萌发率均可大幅提升,表明加拿大红叶紫荆的种子还具有生理休眠的特性。综上所述,加拿大红叶紫荆的种子具有物理休眠和生理休眠的特性,即具有复合休眠特性。

目前,已报道的具有复合休眠特性的物种主要集中在豆科和牻牛儿苗科^[1,13]的植物种子中。具这类休眠的种子需要分别打破物理休眠和生理休眠,种子才能萌发^[13]。在自然生境下,生理休眠主要依靠冬季的低温打破;在实验室内,可以通过赤霉素和冷(或暖)层积的方式打破^[1]。本研究的结果与之一致,通过 3 个月的 4℃冷层积或 500 mg/L 赤霉素处理均可使萌发率达到 80% 以上。

土壤温度的剧烈变动是打破物理休眠的主要方式,尤其是在春季,白天的温度突然升高,而晚上的温度突然下降,通过热胀冷缩的作用使种子表皮破裂^[17]。湿热和浓硫酸处理是人工打破物理休眠常用的方法,其目的在于人为地损伤种皮结构^[1]。但是这些方法都存在有不确定性,若处理时间太短,则会使休眠打破不彻底,而处理时间太长,则会导致种胚损、种子死亡或形成发育畸形的幼苗等^[18-20]。胡小文等对印度田菁种子的研究发现,硫酸处理是打破印度田菁种子休眠最有效的方法,大于 80% 的种子在经硫酸处理 6 min 后可以萌发,而当硫酸处理时间增至 15 min 时,只有小于 20% 的种子可以萌发^[21]。本研究中,30 min 的浓硫酸处理可以显著破除加拿大红叶紫荆种子的休眠,在 30 min 之后,随着处理时间的延长,萌发率开始下降,说明浓硫酸在腐蚀掉种皮之后腐蚀到了种胚。此外,通过热水处理发现,随着处理温度的升高,种子萌发率和死亡率都在逐渐升高,这也是由于高温损伤了

加拿大红叶紫荆的种皮结构,随着高温时间的延长,种胚死亡率逐渐增加的原因。

通过研究加拿大红叶紫荆种子的形态结构、种子吸水特性以及种子休眠的打破方式得出加拿大红叶紫荆种子具有复合休眠特性。通过划破种皮、浓硫酸处理 30 min 或 80℃温水处理 5 min 能有效打破种子的物理休眠,而通过 3 个月的 4℃冷层积或 500 mg/L 赤霉素处理可以有效打破生理休眠。在实际生产过程中,可以对采收的加拿大红叶紫荆种子机械损伤种皮,而后在冬季进行沙藏,来年播种。

参考文献:

- [1] Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. Seed dormancy and germination [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5(1): 33-36.
- [2] Zhang K L, Ji Y S, Fu G X, et al. Dormancy cycles in *Aquilegia oxysepala* Trautv. et Mey. (Ranunculaceae), a species with non-deep simple morphophysiological dormancy [J]. *Plant and Soil*, 2021, 464(1/2): 223-235.
- [3] 姚林君, 张克亮, 熊作明, 等. 种子形态生理休眠研究进展 [J]. *生态学杂志*, 2019, 38(1): 247-255.
- [4] Zhang K L, Yao L J, Zhang Y, et al. Achene heteromorphism in *Bidens pilosa* (Asteraceae): differences in germination and possible adaptive significance [J]. *AoB Plants*, 2019, 11(3): plx026.
- [5] Finch-Savage W E, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination [J]. *New Phytologist*, 2006, 171(3): 501-523.
- [6] Vari A, Jethani I, Sharma S, et al. Seed coat imposed dormancy in *Sesbania* spp. and treatments to improve germination [J]. *Seed Science and Technology*, 2007, 35(2): 318-325.
- [7] 何海燕, 何小弟. 紫叶加拿大紫荆新品种的培育 [J]. *花木盆景 (花卉园艺)*, 2016(6): 39-42.
- [8] 武书良. 加拿大红叶紫荆栽培 [J]. *中国花卉园艺*, 2015(24): 27-28.
- [9] 熊作明, 杨佳欢. 紫叶加拿大紫荆繁殖栽培及开发利用综述 [J]. *林业科技通讯*, 2019(9): 11-14.
- [10] 王朝英, 方文, 陈丽花, 等. 红叶加拿大紫荆对不同强度干旱胁迫的生长及生理响应 [J]. *北方园艺*, 2020(20): 62-69.
- [11] 李艳敏, 王利民, 王慧娟, 等. 紫叶加拿大紫荆试管苗两步生根培养技术研究 [J]. *河南农业科学*, 2017, 46(9): 114-117.
- [12] 李果, 陈丽花, 李承承, 等. 4 种砧木的红叶加拿大紫荆嫁接育苗研究初探 [J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(12): 100-103.
- [13] Baskin C, Baskin J M. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination [M]. San Diego: Academic Press, 1998.
- [14] Yan A, Chen Z. The control of seed dormancy and germination by temperature, light and nitrate [J]. *The Botanical Review*, 2020, 86(1): 39-75.
- [15] Rosbakh S, Baskin C C, Baskin J M. Nikolaeva et al. 's reference book on seed dormancy and germination [J]. *Ecology*, 2020, 101

林群英, 龚光禄, 李传华, 等. 新古尼异虫草培养及子实体成分分析[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(3): 165–170.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.03.025

新古尼异虫草培养及子实体成分分析

林群英^{1,2}, 龚光禄², 李传华³, 吴亮亮¹, 邓春英⁴

(1. 中华全国供销合作总社南京野生植物综合利用研究所, 江苏南京 211100; 2. 贵州省农业科学院/
贵州省食用菌育种重点实验室, 贵州贵阳 550006; 3. 农业农村部南方食用菌资源利用重点实验室/国家食用菌工程技术研究中心/
上海市农业遗传育种重点开放实验室/上海市农业科学院食用菌研究所, 上海 201403; 4. 贵州科学院, 贵州贵阳 550001)

摘要:为加快实现新古尼异虫草(*Metacordyceps neogunnii*)的人工栽培和开发利用,以分离自贵州的菌株为种质材料进行人工培养,对栽培获得的子实体进行成分分析。结果显示,果糖和蚕蛹水提液最利于菌丝体的生长,生长速度均为 1.5 mm/d, 25 ℃、pH 值为 5.0 时,菌丝体生长最快。以含果糖和蚕蛹的营养液配制小米培养基,新古尼异虫草子实体高可达 6 cm,生物转化率达 47.5%。子实体含粗蛋白 29.5%、粗纤维 20.4%、灰分 4.02%、水解氨基酸 14.3%;有效成分方面,含腺苷 497 mg/kg、粗多糖 5.5%、虫草酸 7.0%,但未检测出虫草素。研究结果将有效促进新古尼异虫草的人工栽培。

关键词:新古尼异虫草;古尼虫草;生物学特性;人工驯化;成分测定

中图分类号:S567.3+50.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)03-0165-06

虫草类真菌因其独特的生活史而备受关注,而显著的药理活性则大大促进其应用开发。近 20 年来,虫草类文献有 2 000 余篇^[1],蛹虫草(*Cordyceps militaris*)人工培养基质相关专利申请数为 377 件^[2]。除了冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)和蛹虫草外,广东虫草(*Tolypocladium guangdongense*)和蝉花(*C. chanhua*)等更多种类开始得到广泛应用^[3-4]。新古尼异虫草(*Metacordyceps neogunnii*)的

外观与冬虫夏草十分相似,常被混淆或作为替代品使用,该种具有多种与冬虫夏草相似的药理活性,如抗肿瘤、抗氧化、镇痛、镇静、免疫调节和促进伤口愈合等多种活性作用^[5-6]。新古尼异虫草在我国一直被认为是古尼虫草(*C. gunnii*),直至 2017 年才被重新鉴定为新种,且两者在遗传上有很大的差异^[7]。

尽管新古尼异虫草具有突出的应用价值,但由于未能实现规模化商业栽培,目前仅能使用野生资源,这极大限制了其开发利用。新古尼异虫草人工培养始于 1985 年,当时报道新古尼异虫草的无性型及平板菌丝培养情况^[8-9]。1990 年,刘杰麟等首次报道新古尼异虫草子实体的驯化栽培,在米饭培养基上长出少量子实体,生长周期为 3 个月^[10],直至 2015 年,孙超男证实小米最利于古尼虫草子实体的生长,产量较前者略有提高,但离生产要求仍有较大差距^[11]。新古尼异虫草子实体栽培的研究进展

收稿日期:2022-04-26

基金项目:贵州省科技计划(编号:黔科合支撑[2019]2451-2、[2019]2333 号);贵州省食用菌育种重点实验室开放课题(编号:黔科合平台人才[2019]5105-2009 号)。

作者简介:林群英(1979—),女,广东新会人,博士,研究员,研究方向为食用菌栽培与应用。E-mail:linqunying1007@126.com。

通信作者:邓春英,博士,副研究员,研究方向为大型真菌资源多样性与前期开发利用。E-mail:171934233@qq.com。

(7):e03049.

[16] Zhang Y, Zhang K L, Ji Y S, et al. Physical dormancy and soil seed bank dynamics in seeds of *Melilotus albus* (Fabaceae) [J]. *Flora*, 2020, 266: 151600.

[17] Yogeesha H S, Shivananda T N, Bhanuprakash K. Effect of seed maturity, seed moisture and various pre-treatments on seed germination of annatto (*Bixa orellana* L.) [J]. *Seed Science and Technology*, 2005, 33(1): 97–104.

[18] Baskin J M, Baskin C C. A classification system for seed dormancy

[J]. *Seed Science Research*, 2004, 14(1): 1–16.

[19] Hu D D, Baskin J M, Baskin C C, et al. Ecological role of physical dormancy in seeds of *Oxytropis racemosa* in a semiarid sandland with unpredictable rainfall [J]. *Journal of Plant Ecology*, 2017, 11(4): 542–552.

[20] 姚林君. 凤丹种子发育、休眠与萌发特性研究[D]. 扬州:扬州大学, 2020.

[21] 胡小文, 武艳培, 王彦荣, 等. 豆科种子休眠破除方法初探[J]. *西北植物学报*, 2009, 29(3): 568–573.